Anleitung

zum

Nachweis, zur Trennung und Bestimmung der reinen und aus Glukosiden usw. erhaltenen Monosaccharide und Aldehydsäuren

(l-Arabinose, d-Xylose, l-Rhamnose, Fukose, d-Glukose, d-Mannose, d-Galaktose, d-Fruktose, d-Glukuronsäure, d-Galakturonsäure und Aldehydschleimsäure)

nach

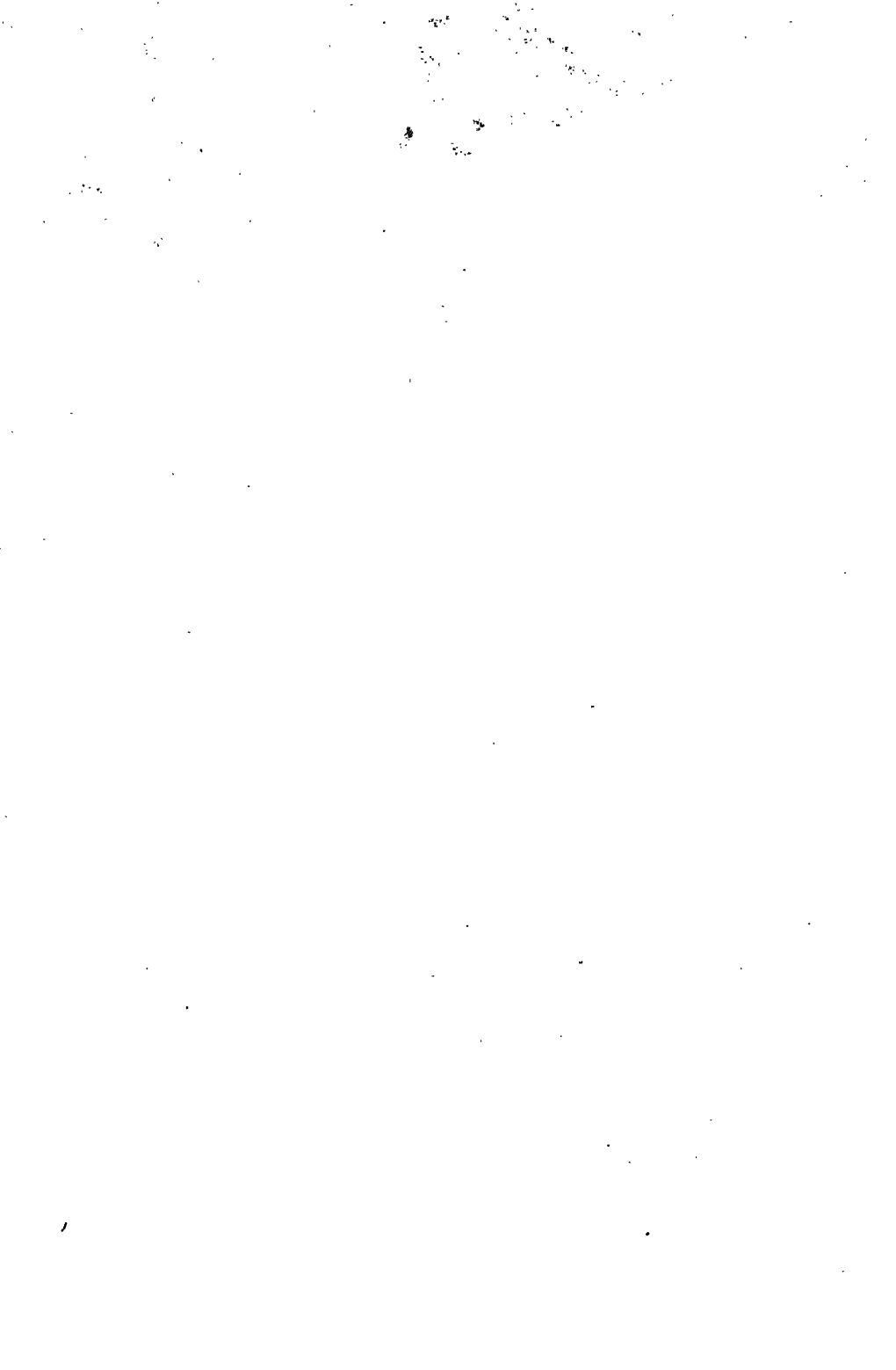
experimentellen Untersuchungen

von

Dr. A. W. van der Haar

Mit 14 Textfiguren und 10 Tabellen

Berlin
Verlag von Gebrüder Borntraeger
W 35 Schöneberger Ufer 12a
1920

Meiner Frau

Vorwort

> It may be impossible for human intelligence to comprehend Absolute Truth, but it is possible to observe Nature with an unbiassed mind and to bear truthful testimony of things seen.
> R. A. Gregory in „Discovery“

Das vorliegende Buch verdankt seine Entstehung einem bei meinen Glukosidstudien empfundenen Mangel nicht nur an einem übersichtlichen Werk über den Nachweis, die Trennung und Bestimmung reiner oder aus Glukosiden und dergleichen Substanzen erhaltenen Monosacchariden und Aldehydsäuren, sondern ebenso an einem Werk, das gleichzeitig als eine phytochemische Anleitung auf diesem Gebiete dienen könnte.

Wie ausgezeichnet und unentbehrlich die betreffenden Handbücher, welche das ganze Literaturgebiet wiederzugeben und zu überblicken versuchen, auch sein mögen, wie nützlich die kleineren Werke, welche vom pädagogischen Standpunkte aus, eine Übersicht in irgend einer bestimmten Richtung geben, so lassen diese Werke, ihrem festgestellten Zwecke zufolge, uns doch bei praktisch-chemischer, speziell bei phytochemischer Forschung, oft im Stich.

Bei der Wahl meiner Arbeit wurde im Hinblick auf die phytochemische Forschung in Betracht gezogen, daß es nicht erwünscht sei, nur die Monosaccharide aufzunehmen, welche man oft als „gewöhnliche“ betrachtet, sondern ebenso die freien oder gebundenen Monosaccharide, welche ebenso oft, wenn nicht öfter, natürlich vorkommen. Überdies ist in der letzten Zeit von einigen Aldehydsäuren als Spaltungssäuren von Glukosiden und dergleichen die Rede, welche wir nicht nur nachzuweisen uns bestreben müssen, sondern welche durch die Übereinstimmung in einigen Eigenschaften mit den Monosacchariden, sowie lediglich durch ihre Anwesenheit, die Untersuchung sehr erschweren.

Es wurden der Nachweis, die Trennung und Bestimmung von acht Monosacchariden und der Glukuronsäuregruppe ausführlich behandelt, am Schlusse ein Analysengang von Glukosiden und ver-

wandten Substanzen aufgestellt, und das Ganze an phytochemischem Untersuchungsmaterial noch näher erläutert. Die Trennungen wurden in ausgedehntem Maßstabe mittels mehrerer Hydrazine und möglichst wenig Substanz durchgeführt.

Bei der Benutzung des Buches sei darauf hingewiesen, daß man im allgemeinen am besten vorgehen wird, mit dem Analysengang in Kap. IX anzufangen und von hier aus auf die anderen Kapitel zurückzugreifen.

Was die Methoden betrifft, wurde neben der rein chemischen, vielfach die bis jetzt noch viel zu wenig benutzte biochemische Methode mit Hefereinkulturen in den Untersuchungsgang aufgenommen, welche durch die Untersuchungen G. van Iterson's, A. J. Kluyver's und anderer, zu schönen Resultaten geführt hat, und welche auch hier für richtige Untersuchung unentbehrlich ist. Damit die biochemische Methode allgemein leicht herangezogen werden kann, war Herr Professor Dr. G. van Iterson so liebenswürdig, die Kluyversche Laktosehefe dem „Institut für Gärungsgewerbe und Stärkefabrikation (Dir. Prof. Dr. Lindner), Berlin N65, Seestraße, zu übermitteln, während Herr Prof. Dr. Lindner sich bereit erklärte, Abimpfungen dieser, sowie anderer Hefen, für Analysenzwecke, zum in diesem Werke genannten Preise den Anfragern zur Verfügung zu stellen, und das Laboratorium voor technische Botanie (Dir. Prof. Dr. G. van Iterson), Poortlandlaan, Delft, Abimpfungen von Laktosehefe zum Kostenpreis, nur für Holland. Beiden Herren spreche ich hierfür meinen verbindlichsten Dank aus.

Ich verhehle mir nicht, daß der Nachweis usw. phytochemischer Saccharide und Aldehydsäuren nebeneinander uns große, ja bei ganz kleinen Mengen in ungünstigen Verhältnissen zurzeit unüberwindliche Schwierigkeiten bereiten können. Die stetige Begegnung dieser Beschwerden veranlaßte mich, durch kritische Prüfung, Durcharbeitung und Erweiterung dieses Gebietes, sie tunlichst zu überwinden.

Weil die Schwierigkeiten, welche sich bei organisch-chemischer, speziell bei phytochemischer Forschung ergeben, nach obliegenden Umständen wechselnde sein können, wodurch jede Untersuchung mehr oder weniger einzeln dasteht, erachte ich Mitteilungen nur der kurzen Endergebnisse, welche oft nur Allgemeinheiten darstellen, für eine Anleitung auf diesem Gebiete meistenteils gänzlich unzureichend. Erst dann können meines Erachtens auch

für Andere brauchbare, übersichtliche Resultate erreicht werden, wenn stets durch praktische Demonstrierung erläutert wird, was z. B. eine Reaktion, eine Methode, eine Trennung unter wechselnden, möglichst der Wirklichkeit entsprechenden Bedingungen, zu leisten imstande ist.

Es wurde stets diesem Wege gefolgt.

Und so übergebe ich diese Arbeit der Öffentlichkeit in der Hoffnung, daß sie auch Anderen gute Dienste leisten und eine Lücke ausfüllen möge.

Für Winke, Hinweise und Vorschläge seitens der Benutzer halte ich mich gern empfohlen.

Herrn Prof. Dr. J. J. Blanksma, Leiden, der die Güte hatte, das Manuskript durchzulesen und mir wertvolle Bemerkungen zuteil werden ließ, Herrn Dr. W. Spalteholz, Amsterdam, der die Arbeit sprachlich durchnahm, sowie Frl. Toni Unger, Berlin, die die Korrekturen mitlas, danke ich herzlich für ihr freundliches Entgegenkommen.

Der Firma C. A. F. Kahlbaum, Berlin, danke ich für ihre Bereitwilligkeit, einige bis jetzt noch nicht im Handel sich befindende Hydrazine in ihre Preisliste aufzunehmen, sowie von den bald sich zersetzenden Hydrazinen 1 g Packung einzuführen, so daß ihrer allgemeinen Benutzung nichts mehr im Wege steht.

Schließlich bringe ich dem Herrn Verleger meinen Dank für das Interesse, das er meiner Arbeit zuteil werden ließ und sie ungeachtet der schwierigen Umstände in guter Ausstattung herausgab.

Utrecht, August 1920.

Der Verfasser

Inhaltsverzeichnis

Kapitel I

Kapitel II

Kapitel III

(Pentosen, Methylpentosen, d-Glukuronsäure, d-Galakturonsäure und Aldehydschleimsäure.)

Kapitel IV
(Hexosen)

Kapitel V

Quantitative Bestimmung einzelner Monosaccharide, der d-Glukuron- und der d-Galakturonsäure, sowie in Gemischen

Kapitel VI

Seite

Kapitel VII

Kapitel VIII

Seite

Kapitel IX

Kapitel X

Einleitung

Seit Emil Fischer im Jahre 1884 seine Forschung über die Zucker mittels ihrer Hydrazinverbindungen begonnen hat, ist das Studium von ihm und seinen Schülern, sowie von manchen anderen Forschern, deren Namen in den Annalen der Chemie verzeichnet sind, fortgesetzt worden. Es ist jetzt nicht nur möglich geworden, die verschiedenen Isomere zu begreifen und sie zu synthetisieren, sondern unsere Kenntnis über den Nachweis und die Trennung von Sacchariden u. dergl. hat derart zugenommen, daß es in den meisten Fällen möglich geworden ist, sie nachzuweisen und zu trennen, was vor diesem Zeitpunkt nicht möglich war oder nur sehr unbefriedigend stattfinden konnte.

Bis zum Jahre 1884 war nur von einigen Sacchariden etwas Näheres bekannt, nämlich von Saccharose, Fruktose, Glukose, Galaktose und Sorbose, wobei Monosaccharide mit sechs Kohlenstoffatomen für die einfachsten angesehen wurden.

Weil vor der Benutzung des Phenylhydrazins im Jahre 1884 von unzweideutigem Nachweis keine Rede war, wurde ein reduzierendes Saccharid entweder mit „Glukose" oder mit dem Namen der Ursubstanz, aus der es erhalten worden war, unter Hinzufügung der Silbe „ose", belegt. Ebenso glaubte man in späterer Zeit mehrere Saccharide, welchen Individualität zugeschrieben wurde, nachgewiesen zu haben. Auf diese Weise entstanden Fantasienamen, wie Cerasinose, Prunose, Scammonose usw., deren Anzahl nachher bei besserer Strukturkenntnis und besseren Nachweismitteln auf einige Pentosen, Methylpentosen, Hexosen und Säuren reduziert wurde. In den meisten Büchern auf diesem Gebiete kommen aber diese Namen noch vor. Wie wir unten sehen werden, ist das der Fall mit folgenden Substanzen. Sie sollten fortan nur in historischen Werken Erwähnung finden.

I. Cerasinose

Lit.: Martin[1]) gab diesen Namen dem Saccharid aus Kirschgummi bei der Hydrolyse erhalten. Es sollte alsdann in Arabinose übergehen.

Kiliani[2]) hydrolysierte nach den Bauerschen Angaben[3]) und wies Arabinose nach, erhielt jedoch bei der Oxydierung mittels Salpetersäure keine Schleimsäure, welche jedoch von Garros[4]) nachgewiesen wurde.

Martina[5]) schließt auf Arabinose und Galaktose nur auf Furfuröl- und Schleimsäurebildung.

Hauers[6]) fand Arabinose auf.

F. Ehrlich[7]) gibt d-Galakturonsäure an.

Untersuchung:

Eine Pentosanbestimmung nach Tollens-Krüger (s. Kap. IIIB) in dem mir zur Verfügung stehenden Kirschgummi ausgeführt, zeigte einen Gehalt von 46% Pentosen nach der Kröberschen Tabelle an, was an und für sich nicht richtig ist, wegen des damals noch unbekannten Vorkommens der d-Galakturonsäure in pflanzlichen Gegenständen. Diese reagiert in dieser Hinsicht wie die Pentosen, gibt aber eine ganz andere Menge Furfurolphlorogluzid. Methylpentosen lagen nicht vor.

20 g Kirschgummi (16% Wasser enthaltend) wurden mit 400 g 3%iger Schwefelsäure hydrolysiert. Die nach üblicher Weise erhaltenen sirupartigen Saccharide gärten mit Preßhefe während 2 Stunden bei 35° C nicht. d-Glukose, d-Mannose und d-Fruktose lagen also nicht vor. Ebensowenig konnte Xylose nach der Bertrandschen Reaktion (siehe Kap. III A b) nachgewiesen werden. -Arabinose dagegen wurde als α-Benzylphenylhydrazon (siehe Kap. VI), als Diphenylhydrazon (ebenda) und als p-Bromphenylhydrazon (ebenda) nachgewiesen.

---

[1]) E. Martin, Über die aus Kirschgummi entstehende Zuckerart, in R. Sachsse, Phytochem. Untersuch. I, 69 (1880). Und Dissert.: Über Cerasinose, eine neue Zuckerart aus Kirschgummi.

[2]) H. Kiliani, Über Arabinose. Ber. **19**, 3029—3036 (1886).

[3]) W. Bauer, Über den aus Agar-Agar entstehenden Zucker usw. J. pr. Ch. **30**, 367—388 (1884).

[4]) Garros, durch Chem. Ztg. **15**, R. 250.

[5]) G. Martina, Die Zusammensetz. d. lösl. Gummiarten. Ref. in Apoth. Ztg. **9**, 295—296 (1894).

[6]) R. Hauers. Über die Hydrolyse pentosenhalt. Stoffe usw. Diss. Göttingen 1902.

[7]) F. Ehrlich, Die Pektinstoffe, ihre Konstitution und Bedeutung. Chem. Ztg. **41**, 197—200 (1917).

In dem Filtrate des abgeschiedenen Arabinose-p-Bromphenylhydrazons wurde d-Galaktose als Methylphenylhydrazon (Kap. VI) nachgewiesen.

Nach der Tollens-Neuberg und Saneyoshischen Naphthoresorcinreaktion mit Benzolausschüttelung konnte ich[1]) die „Glukuronsäuregruppe" nachweisen, welche von Ehrlich (a. a. O.) hier als d-Galakturonsäure präzisiert worden war, deren weitere Untersuchung sich Ehrlich vorbehalten hat.

Der Namen „Cerasinose" hat sich in diesen und anderen Fällen also in dem eines Gemisches aus l-Arabinose, d-Galaktose und d-Galakturonsäure aufgelöst (letztere Substanz von Ehrlich angegeben).

2. Prunose

Lit.: Garros[2]) gab der aus Pflaumengummi entstehenden Pentose diesen Namen.

Maquenne[3]) zweifelte das an.

Hanriot[4]) meinte, daß die Garrosschen Angaben nicht zu einem bestimmten Schluß Anlaß geben können.

Bauer[5]) schließt auf Galaktose, nach $\alpha_D = +78^0{,}07$.

Martina (a. a. O.) schließt auf Arabinose und Galaktose nur nach der Furfurol- und Schleimsäurebestimmung.

Lemeland[6]) fand bei Hydrolyse Arabinose auf, und Galaktose nur nach der Schleimsäurereaktion.

Untersuchung:

1 g Pflaumengummi (16,4% Wasser enthaltend) gab bei der Pentosanbestimmung 273 mg Phlorogluzid, von welchem von 246 mg 182 mg in absolutem Alkohol löslich waren. Weil überdies noch die Rosenthalersche Reaktion (siehe Kap. III A) auf Methylpentose auftrat, ist es klar, daß Pentosen und Methylpentosen vorkommen.

Nach Hydrolyse wurde ein gelber Sirup erhalten, welcher mit Preßhefe nur eine schwache Gärung erregte, übereinstimmend mit etwa 2% mit Preßhefe vergärbarer Hexose.

Arabinose konnte mit Diphenylhydrazin und mit p-Bromphenylhydrazin nicht nachgewiesen werden, an ihrer Stelle trat

---

[1]) A. W. van der Haar, Üb. d. Nachweis der d-Glukuronsäure u. ähnlich sich verhaltenden Säuren mittels der Naphthoresorcinreaktion. Bio. 88, 205—212 (1918).

[2]) Garros, Mém. Bull. Sér, 3. 11, 595 (1894).

[3]) Maquenne, Mém. Bull. Sér. 3, 11, 595 (1894).

[4]) Hanriot, Mém. Bull. Sér. 3, 13, 227 (1895).

[5]) R. W. Bauer, Über Galaktose aus Pflaumengummi. Landw. Vers. 35, 215—216 (1888).

[6]) P. Lemeland (Thèse Paris 1905). Sur la gomme de Prunier.

jedoch Xylose auf, die mit der Bertrandschen Xylonsäurereaktion (siehe Kap. III A b) nachgewiesen werden konnte.

d-Galaktose wurde wie bei Kirschgummi beschrieben, nachgewiesen.

Die Methylpentose konnte der kleinen, zur Verfügung stehenden Menge wegen nicht näher bestimmt werden.

Nach der Tollens-Neuberg und Saneyoshischen Naphthoresorcinreaktion mit Benzolausschüttelung konnte ich (a. a. O.) die „Glukuronsäuregruppe" nachweisen.

Der Namen „Prunose" hat sich in diesem und anderen Fällen, also in dem eines Gemisches aus Xylose, d-Galaktose, einer noch unbekannt gebliebenen Methylpentose und einen oder mehreren Vertretern der Glukuronsäuregruppe, aufgelöst.

3. Scammonose

Lit.: Dieser Namen wurde von Riquier[1]) den Sacchariden, welche bei der Hydrolyse von Convolvulin erhalten werden, gegeben. Nach den Votoček- und Vondraček-schen Untersuchungen[2]) ist Scammonose als ein Gemisch von Rhodeose, Isorhodeose (beide Methylpentosen) und d-Glucose zu betrachten, von welchen die Rhodeose (Methyl-l-Arabinose) kristallinisch ist, die Isorhodeose (Methyl-l-Xylose) sirupförmig[3]).

Nach einem von mir etwas abgeänderten Votočekschen Verfahren erhielt ich aus dem Merckschen Convolvulin, nach Vergärung der d-Glucose, die Rhodeose schließlich in reiner kristallisierter Form.

4. Traganthose

Lit.: O'Sullivan[4]) gab diesen Namen.

v. Sandersleben[5]) fand bei Hydrolyse von Traganth wenig Arabinose.

Flint und Tollens[6]) fanden 37,28 % Arabinose.

Widtsoe und Tollens[7]) fanden Arabinose, Xylose und Fukose auf.

---

[1]) P. Riquier, durch Chem. Centralbl. II. Oct. (1904).

[2]) E. Votoček und R. Vondraček, Üb. d. sogenannte Scammonose. Ber. **37**, 4615—4616 (1904).

[3]) Ebenda Ber. **43**; 476—482 (1910); **44**, 819—824 (1911);

E. Votoček und C. Krauz. Ber. **44**, 3287 (1911).

E. Votoček, Über einige Derivate der Rhodeose (Abbau der Rhodeose). Ber. **50**, 35—42 (1917).

[4]) O'Sullivan. Nach v. Lippmann, Chemie der Zuckerarten I, 155 (1904). Ich konnte es in der dort angegebenen Literatur nicht finden.

[5]) H. v. Sandersleben, Über den aus Traganth entstehenden Zucker in R. Sachsse, Phytochem. Unters. S. 90.

[6]) E. R. Flint und B. Tollens, Über die Bestimmung von Pentosanen und Pentosen in Vegetabilien usw. Ber. **25**, 2917 (1892).

[7]) J. A. Widtsoe und B. Tollens, Dissertation Widtsoe's, Göttingen 1899 und: Über Arabinose, Xylose und Fucose aus Traganth. Ber. **33**, 132—143 (1900).

Ehrlich (a. a. O.) wies die d-Galakturonsäure nach. Ich (a. a. O.) konnte nach der Tollens-Neuberg und Saneyoshischen Naphthoresorzinreaktion mit Benzolausschüttelung die „Glukuronsäuregruppe“ nachweisen.

Der Namen „Traganthose“ hat sich also jetzt als einer eines Gemisches aus l-Arabinose, Xylose, Fukose und d-Galakturonsäure aufgelöst. (Siehe weiter Kap. X, wozu noch d-Galaktose und wahrscheinlich d-Glukose kommen.)

5. Phlorose

Lit.: Dieser Namen wurde von Hesse[1]) dem rechtsdrehenden Spaltungszucker des Glukosids Phloridzin gegeben.

Rennie[2]) und später E. Fischer[3]) haben ihn als d-Glukose identifiziert.

6. Crocose

Lit. Kayser[4]) gab dem Spaltungszucker des Farbstoffes und des Bitterstoffs aus Safran diesen Namen.

Nastvogel[5]) identifizierte ihn als d-Glukose, die mögliche Anwesenheit noch anderer Monosaccharide offen lassend.

7. Cerebrose

Lit.: Dieser Namen stammt von Thudichum[6]) her für das Saccharid, durch Verseifung von in bestimmten tierischen Geweben vorkommenden Substanzen erhalten.

Thierfelder[7]) identifizierte es als d-Galaktose.

8. Hederose

Lit.: Houdas[8]) erhielt aus seinem Glukosid aus Hedera Helix eine, auch von anderen, zwar unrichtig erkannte Hexose, Hederose (Glukose), neben von H. aufgefundener Rhamnose. Ich[9]) konnte nachweisen, daß keine Hexose unter den Spaltungszuckern auftritt, sondern l-Arabinose, neben der Rhamnose.

Der Namen „Hederose“ ist also nichts anderes als l-Arabinose[10]).

---

[1]) O. Hesse, Über Phlorose. Lieb. Ann. **192**, 173—175 (1878).

[2]) E. H. Rennie, On Phloridzin. Chem. Soc. **51**, 634—637 (1887).

[3]) E. Fischer, Über die Verbindung des Phenylhydrazins mit den Zuckerarten. Ber. **21**, 988 (1888).

[4]) R. Kayser, Üb. in Safran vorhandene Substanz. Ber. **17**, 2228—2234 (1884).

[5]) Siehe bei E. Fischer, Ber. **21**, 988 (1888).

[6]) J. L. W. Thudichum, Über das Phrenosin usw. J. pr. Ch. **25**, 19—28 (1882); **53**, 49—91 (1896). Auf S. 90 steht: Browne u. Morris wiesen an Material von Th. ihnen übermittelt, nachdem Th. durch Oxydierung mit Salpetersäure Schleimsäure erhalten hatte, nach, Cerebrose sei Galaktose.

[7]) H. Thierfelder, Üb. d. Identität d. Gehirnzuckers mit Galactose. Z. physiol. Ch. **14**, 209—216 (1890).

[8]) Houdas, Contrib. à l'étude du lierre, prépar. de l'Hédérine. C. R. **128**, 1463 (1899).

[9]) A. W. van der Haar, Diss. Bern 1913. Hier Literatur. Arch. **251**, 650—666 (1913) oder Pharm. W. **50**, 16—35 (1913).

[10]) Es sei bemerkt, daß im Handbuche A. Tschirchs (Bern), ungeachtet der Resultate meiner Berner Dissertation (1913) und anderswo veröffentlichter Unter-

9. Tewfikose

Lit.: Dieser Namen wurde von Pappel und Richmond[1]) einem Saccharid, das sie zu einem Gehalte von 5—6 % in der Milch der ägyptischen Büffelkuh nachzuweisen glaubten, gegeben.

Porcher[2]) wies nur Laktose nach.

10. Tabakose

Lit.: Attfield[3]) gab diesen Namen dem aus Tabak erhaltenen Saccharid, dessen Individualität indessen sehr zweifelhaft ist. Behrens[4]) fand nur d-Glukose und etwas Saccharose auf.

11. Cyclamose

Lit.: Michaud[5]) beschrieb seine „Cyclamose" aus den Dahliaknollen und gab ihr die Formel $C_{12}H_{22}O_{11}$.

Nach Rayman[6]) kommt neben Cyclamin Cyclamosin vor und nach Plzàk[7]) kommt Cyclamose nicht vor, doch findet sich neben einem Araban ein Glukosid, das in Cyclamiretin, d-Glukose und einer Pentose (Cyclose) gespalten werden kann.

Der Namen „Cyclamose" löst sich also vorläufig auf in einen eines Gemisches von d-Glukose und einer Pentose.

12. Solanose

Lit.: Davies[8]) gab den Namen. (nach Lippmann, Chem. d. Zuckerarten I, 981 (1904)). Andere (ebenda) fanden d-Glukose auf.

Zeisel und Wittmann[9]) wiesen als Spaltungsprodukte des Solanins d-Glukose, Rhamnose und noch ein Monosaccharid nach.

---

suchungen, und unserer Korrespondenz (1916) (u. m. über die Nichterwähnung der neueren Saponinchemie im Handbuche) bei der Besprechung im Hefte 44 (1917) S. 1613 noch der Namen „Hederose" und nur die älteren Formeln des Hederins und Hederidins (Hederagenins) wiedergegeben, und das Hederin bei den „Glucosiden anderer (hier: nicht-saponinartiger) und unbekannter Zugehörigkeit" kurz abgehandelt werden, was bekanntlich nicht den Tatsachen entspricht.

L. Rosenthaler, Organ. Verbind. (1914) zitiert die richtigen Formeln.

[1]) A. Pappel und H. D. Richmond, The milk of the gamoose. J. Chem. Soc. **57**, 754—760 (1890).

[2]) Ch. Porcher, Sur le sucre de lait de buffles. Mém. Bull. Sér. [3], **29**, 828—830 (1903).

[3]) J. Attfield, durch Ber. **17**, R. 69.

[4]) J. Behrens, Weitere Beiträge z. Kenntnis d. Tabakspfl. Landw. Vers. **43**, 271—301 (1894).

[5]) G. Michaud, Cyclamose, a new sugar. Chem. News **53**, 232 (1886).

[6]) B. Rayman durch Chem. Ztg. **20**, R. 314 (1896).

[7]) Fr. Plzàk, Über Cyclamin. Ber. **36**, 1761—1765 (1903).

[8]) Im Chem. Centralbl. 1902, b, 804 angegebene Literatur: Pharm. Journ. [4] **15**, 160—161, fand ich es nicht.

[9]) S. Zeisel und J. Wittmann, Zur Kenntnis des Solanins. Ber. **36**, 3554—3558 (1903).

Votoček u. Vondraček[1]) wiesen d-Glukose, Rhamnose und d-Galaktose nach (letztere wurde schon im Jahre 1902 vermutet).

Jedenfalls ist der Namen „Solanose“ nur von historischer Bedeutung geworden.

13. Skimminose

Lit.: Nach Lippmann, Chemie der Zuckerarten I, 981 (1904) hat Eykman[2]) diesen Namen dem Saccharid des Glukosids Skimmin gegeben.

14. Cymarose

Ein von Windaus und Hermanns[3]) bei der Hydrolyse des Glukosids Cymarin aus Apocynum cannabinum erhaltenes Saccharid, das nach ihr wahrscheinlich ein Methyläther der Digitoxose ist. Später schreibt Windaus[4]) ...... spalten unter denselben Bedingungen Methylpentosen (Rhamnose) oder ähnlich gebaute Zucker (z. B. Cymarose) ein Mol. Acetaldehyd ab, usw.

---

[1]) E. Votoček und R. Vondraček, Über die Zuckerkomponenten des Solanins und Convallamarins. Ber. **36**, 4372 (1903).

Siehe auch: A. Heiduschka und H. Sieger. Beiträge zur Kenntnis des Solanins. Arch. **255**, 18—44 (1917).

[2]) J. F. Eykman, Sur les principes actifs de la Skimmia japonica. Rec. 3, 204—213 (1884). Hier steht der Namen Skimminose jedoch nicht.

[3]) A. Windaus und L. Hermanns, Über Cymarin, den wirksam. Bestandteil aus Apocynum cannabinum. Ber. **48**, 979 (1915).

[4]) A. Windaus, Notiz über die Oxydation organ. Verbind. mit Chromsäure. Z. physiol. Ch. **100**, 168 (1917).

Kapitel I

Einleitung

Weil von den übrigen in der Natur vorkommenden Monosacchariden die Digitalose, deren Formel eine Dimethylpentose sein könnte, aus dem Digitalin erhalten; die Digitoxose, deren Formel eine Dimethyltetrose sein könnte, aus Digitoxin erhalten, jedoch beide noch nicht genügend gekennzeichnet sind; weiter die Apiose als β-Oxymethyltetrose nur in dem Apiin aufgefunden ist; die d-Arabinose nur in dem Aloin; die d-Ribose nur in Nukleïnsäuren, die d-Sorbose nur aus dem Sorbit des Vogelbeersaftes durch Bakterienwirkung erhalten ist; die Chinovose aus Chinovit und endlich die Rhodeose und die Isorhodeose nur in Convolvulin aufgefunden sind, die Antiarose nur aus dem Glukosid Antiarin erhalten ist, werden diese nicht in den Untersuchungsgang aufgenommen. Nur ihre Haupteigenschaften werden wiedergegeben, wobei ausführlicher auf die Handbücher und die Originalliteratur verwiesen wird.

Selbstverständlich werden die nur synthetisch erhaltenen Monosaccharide hier nicht berücksichtigt.

Von den natürlich vorkommenden Monosacchariden bleiben nun die acht am meisten vorkommenden, wie sie im Titel genannt sind, übrig. Die Fukose gehört zwar nicht zu den häufig vorkommenden Monosacchariden, sie ist jedoch bereits in Traganthsorten, in den Zellwänden der Fukusarten, als Fukosan nachgewiesen, hat überdies in mancherlei Hinsicht Verwandtschaft mit einigen der am meisten vorkommenden Monosacchariden. Die Fukose gibt außerdem solche ausgezeichnet bestimmbaren Verbindungen, daß es mir wünschenswert erschien, dieselbe in den Untersuchungsgang mit aufzunehmen.

In der letzten Zeit hat sich jedoch herausgestellt, daß wir bei phytochemischer Forschung auf diesem Gebiete noch mit zwei Verbindungen zu rechnen haben, welche als Spaltungsprodukte von Glukosiden usw. aufgefunden worden sind und wahrscheinlich öfter

vorkommen werden, als vor kurzer Zeit vermutet wurde, nämlich die d-Glukuron- und die d-Galakturonsäure.

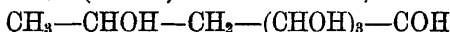
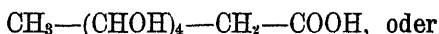
Diese Verbindungen gehören zwar nicht den Monosacchariden an, können aber durch ihre Anwesenheit sehr störend und irreführend wirken bei der Monosaccharidforschung; überdies ist ihre Auffindung notwendig, um zur Kenntnis des Glukosidmoleküls usw. zu gelangen. Es erscheint also wünschenswert, auch diese Verbindungen ausführlicher zu behandeln und in den Untersuchungsgang mit aufzunehmen, wenn auch letzterer dadurch sehr erschwert wird.

Es folgen jetzt die wichtigsten Eigenschaften der oben genannten, nur in vereinzelten Fällen aufgefundenen Monosaccharide, nur mit dem Zweck auf ihre Existenz hinzuweisen, und sie bei jeder derartigen Forschung in der Erinnerung beizubehalten.

A. Einige Eigenschaften und Verbindungen der in dem Untersuchungsgang nicht weiter berücksichtigten Monosaccharide

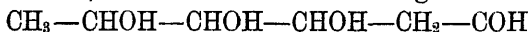
1. Digitalose[1])

Dieses aus dem Glukosid Digitalin durch hydrolytische Spaltung erhaltene Monosaccharid, kann nach der Formel $C_7H_{14}O_5$ folgende Strukturen besitzen:

$$CH_3—(CHOH)_4—CH_2—COOH, \text{ oder}$$
$$CH_3—CHOH—CH_2—(CHOH)_3—COH$$

Später gibt Kiliani[2]) an, sie sei eine Methoxyl-Methylpentose.

2. Digitoxose[3])

Digitoxose ist als eine reduzierte Methylpentose, als eine Aldose aufzufassen, von der Zusammensetzung:

$$CH_3—CHOH—CHOH—CHOH—CH_2—COH$$

Als Spaltungssaccharid des Glukosids Digitoxin erhalten.

Aus alkoholischer Lösung wird sie nach Hinzufügung einiger Volumen Äther in schönen Prismen und Tafeln, mit dem Schmelzpunkt 101°, erhalten, welche leicht in Wasser, in Alkohol und in Aceton löslich sind. $\alpha_D = +46°$.

---

[1]) H. Kiliani, Über Digitalonsäure. Ber. **25**, 2116—2118 (1892). Über Digitoxin u. Digitalin. Ber. **31**, 2454—2464 (1898). Über Digitalin ver. u. seine Spaltungsprodukte. Arch. **237**, 450—458 (1899). Über Digitalin ver. Arch. **252**, 26—32 (1914). Über Digitalonsäure. Ber. **38**, 3621—3623 (1905).

[2]) H. Kiliani, Über Digitalisglukoside. Arch. **254**, 281 (1916).

[3]) H. Kiliani in Arch. **233**, 299—310 (1895); **234**, 273—277 (1896); **235**, 425—429 (1897); **237**, 446—455 (1899); **251**, 562—587 (1913); **254**, 255—272 (1916).

Sie verhält sich bei der Bialschen Probe (siehe später) wie eine Pentose, obwohl sie kein Furfurol bei der Pentosanbestimmung bildet. Das Destillat gibt zwar mit Phlorogluzin und Salzsäure eine Gelbfärbung und einen Absorptionsstreifen im Grün, als ob Methylpentose vorläge, was jedoch von Kiliani verneint wird. Phlorogluzin-Salzsäure ohne Destillation gibt einen Unterschied mit Arabinose, könnte jedoch Methylpentosen vortäuschen[1]).

Sie gibt nur ein Oxim, Schmelzpunkt 102°, in farblosen Nädelchen, leicht in Wasser und in Alkohol, nicht in Äther löslich. Gibt kein Phenylhydrazon oder -Osazon.

Zur Unterscheidung von Pentosen usw. gibt sie die:

1. Lafon-Keller-Kilianische Digitoxin-Reaktion. Wird eine Digitoxoselösung in wenig eisenhaltendem Eisessig (100 ccm Eisessig + 1 ccm 5% Ferrisulfatlösung) mit einer eisenhaltigen Schwefelsäure (100 ccm konz. Schwefelsäure + 1 ccm 5% Ferrisulfatlösung) unterschichtet, so entsteht ein blauer Ring, dessen Farbe sich dem Eisessig mitteilt, diesen schließlich blaugrün färbend.

2. 20 mg Digitoxose in 1 ccm Salzsäure (sp. Gew. 1,1) gelöst, färbt einen Tannenholzspan binnen 5 Minuten zuerst grünblau, dann blaugrün, während die Salzsäure nur lichtgrün wird.

Die Reaktion ist weniger empfindlich als 1.

3. Apiose[2])

Apiose, eine β-Oxymethyltetrose, entsteht neben d-Glukose als End-Saccharid des Glukosids Apiin.

Sie wird nur in Sirupform erhalten, ist nicht vergärbar. Aus ihrem Benzylphenylhydrazon zurückgewonnen, ist ihr $\alpha_D = +3{,}8^0$ (c = 3,4 in Wasser).

Sie gibt folgende Verbindungen:

Benzylphenylhydrazon. Schmelzpunkt 135°, aus Benzol kristallisiert.

Phenylosazon aus Alkohol kristallisiert mit Schmelzpunkt 155—157°, gelbe Nadeln, löslich in Aceton, ziemlich löslich in Äther.

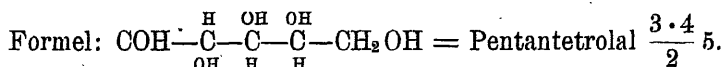
p-Bromphenylosazon. Aus Alkohol in gelben Nadeln, mit Schmelzpunkt 212°.

---

[1]) Arch. **251**, 577 (1913).

[2]) E. Vongerichten in Lieb. Ann. **318**, 121—136 (1901); **321**, 71—83 (1902) und Ber. **39**, 235—240 (1906).

4. d-Arabinose

$$\text{Formel: } COH-\overset{H}{\underset{OH}{C}}-\overset{OH}{\underset{H}{C}}-\overset{OH}{\underset{H}{C}}-CH_2OH = \text{Pentantetrolal } \frac{3\cdot 4}{2}\,5.$$

Diese mit l-Arabinose isomere Aldopentose wird bei der Hydrolyse aus Barbaloïn, Isobarbaloïn, Nataloïn und Homo-Nataloïn erhalten[1]).

Es sind lange, farblose, glänzende, rhombische Prismen; ähnelt der l-Arabinose in chemischer Hinsicht. Schmelzp. 159°; $\alpha_D^{20} = -105^0$ (c = 9,4524).

Sie bildet folgende Verbindungen:

p-Bromphenylhydrazon[2]) durch Einwirkung des Oxims auf das Hydrazin bei gewöhnlicher Temperatur; nach Umkristallisierung aus 50prozentigem Alkohol ist sein Schmelzp. 163°.

Diphenylhydrazon[3]) durch Erwärmung der alkoholischen Lösung der Komponente. Schmelzp. 198°. Wird von Formaldehyd vollkommen gespalten.

C. Neuberg[4]) erhielt dasselbe Hydrazon mit Schmelzp. 216 bis 218°.

Benzylphenylhydrazon. Wurde von Ruff u. Ollendorff (a. a. O.) mit Schmelzp. 174° durch Erwärmung der Komponente in alkoholischer Lösung erhalten. $\alpha_D = +14{,}6^0$ (p = 0,5475 in Methylalkohol).

l-Menthylhydrazon[5]). Aus alkoholischer Lösung des l-Menthylhydrazins und i-Arabinose erhalten, wobei nur die d-Verbindung ein Hydrazon abscheidet. Schmelzp. 131°.

d-Amylhydrazon[6]) erhalten durch Einwirkung der Komponente in Alkohol + Wasser, mit Schmelzp. 115°.

Phenylosazon. Ruff (a. a. O.) erhielt dieses Osazon mit Schmelzp. 160°. Aus Benzol und dann aus Wasser kristallisiert, ist der Schmelzp. 162—163°.

---

[1]) E. Léger in C. R. **134**, 1111 und 1584 (1902); **150**, 983—986 und 1695 bis 1697 (1910); **155**, 172—175 (1912).

[2]) O. Ruff, Über die Verwandlung der d-Glukonsäure in d-Arabinose. Ber. **31**, 1573—1577 (1898).

[3]) O. Ruff u. G. Ollendorff, Verfahren zur Reindarstellung und Trennung von Zuckern. Ber. **32**, 3234—3237 (1894).

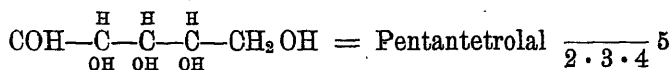
[4]) C. Neuberg, Über d-Arabinose, d-Arabonsäure und die quantitative Bestimmung von Arabinose. Z. physiol. Ch. **35**, 31—40 (1902).

[5]) C. Neuberg, Über die Spaltung von razem. Aldehyden u. Ketonen. Ber. **36**, 1192—1194 (1903).

[6]) C. Neuberg u. M. Federer, Über die Spaltung von Razemkörpern. Ber. **38**, 868—874 (1905).

5. d-Ribose

Diese Pentose von der Formel:

$$COH-\overset{H}{\underset{OH}{C}}-\overset{H}{\underset{OH}{C}}-\overset{H}{\underset{OH}{C}}-CH_2OH = \text{Pentantetrolal } \overline{2 \cdot 3 \cdot 4}\ 5$$

ist neben Guanin ein Spaltungsprodukt des Vernins der Samen von Lupinus luteus. Das Vernin entsteht aus Nukleinsäuren bei der neutralen Hydrolyse (Schulze; Schulze u. Castoro).

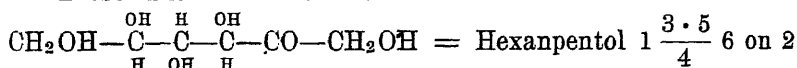
Levene u. Jacobs[1]) haben die Pentose der Nukleinsäuren als d-Ribose erkannt; Alberda van Ekenstein und Blanksma[2]) haben sie durch Synthese kristallinisch erhalten. Schmelzp. 95° (trocken); $\alpha_D = -21{,}5^0$.

Aus dem p-Bromphenylhydrazon mit Schmelzp. 164—165° kann mittels Benzaldehyd die d-Ribose wiedergewonnen werden.

Mittels des Diphenylmethandimethyldihydrazons, aus essigsaurer Lösung mit Schmelzp. 141—142° erhalten, konnte v. Braun[3]) den bereits von Levene u. Jacobs (a. a. O.) gegebenen Befund bestätigen.

6. d-Sorbinose (d-Sorbose)[4])

Diese mit d-Fruktose isomere Ketohexose von der Formel:

$$CH_2OH-\overset{OH}{\underset{H}{C}}-\overset{H}{\underset{OH}{C}}-\overset{OH}{\underset{H}{C}}-CO-CH_2OH = \text{Hexanpentol } 1\,\frac{3 \cdot 5}{4}\,6 \text{ on } 2$$

wurde von Pelouze[5]) entdeckt, entsteht durch Oxydierung mittels Bacterium xylinum aus dem Sorbit des Vogelbeersaftes (Bertrand[6]).

Harte, rhombische Kristalle, Schmelzp. 154° (157°), $\alpha_D^{20} = -43{,}4^0$ (p = 10). Gärt nicht mit Bierhefe.

Phenylosazon, Schmelzp. 164°.

p-Bromphenylosazon, Schmelzp. 181° [7]).

---

[1]) P. A. Levene u. W. A. Jacobs in Ber. **42**, 2102—2106; 2469—2473; 2474—2478; 3247—3251 (1909).

[2]) W. Alberda v. Ekenstein u. J. J. Blanksma in Ch.-W. **10**, 664 (1913); **11**, 182—184 (1914).

[3]) J. v. Braun, Charakterisierung der Organpentose als d-Ribose. Ber. **46**, 3949—3951 (1913).

[4]) H. Kiliani u. C. Scheibler, Über die Konstitution der Sorbinose. Ber. **21**, 3276—3281 (1888). — C. A. Lobry de Bruyn et W. Alb. v. Ekenstein, Le d-Sorbose et le l-Sorbose (ψ Tagatose) et leur configuration. Rec. **19**, 1—11 (1900).

[5]) J. Pelouze, Sur une nouv. matière sucrée extraite des baies de sorbier. C. R. **34**, 377—386 (1852).

[6]) G. Bertrand, Prép. bioch. du Sorbose. C. R. **122**, 900—903 (1896).

[7]) C. Neuberg u. F. Heymann, durch Chem. Centralbl. 1241 (1902).

Gibt kein kristallinisches Methylphenylosazon, in Gegensatz zu d-Fruktose[1]).

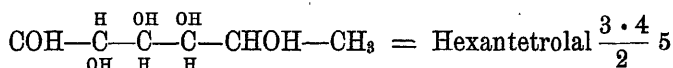
7. Chinovose[2])

Diese mit Rhamnose und Fukose stereoisomere Methylpentose ist bei der Hydrolyse ihrer Äthylverbindung — des Chinovits — erhalten worden. Chinovit entsteht wieder bei der Hydrolyse des Glukosids Chinovin, aus bestimmten China-Rinden.

Sie ist sirupförmig. Ihr Osazon hat einen Schmelzp. 193 bis 194° (unkorrigiert).

8. Rhodeose[3])

Diese optische Antipode von Fukose ist Methyl-l-Arabinose von der Formel:

$$COH-\overset{H}{\underset{OH}{C}}-\overset{OH}{\underset{H}{C}}-\overset{OH}{\underset{H}{C}}-CHOH-CH_3 = \text{Hexantetrolal}\ \frac{3 \cdot 4}{2}\ 5$$

Sie entsteht bei der Hydrolyse der bei alkalischer Spaltung aus Convolvulin erhaltenen Convolvulinsäure, neben Convolvulinolsäure, d-Glukose und Rhamnose.

Votoček bestimmte ihre Konfiguration und nachdem er die Spiegelbildisomerie mit Fukose herausgestellt hatte, bestätigten Tollens und seine Mitarbeiter dies bei der Fukose.

Nädelchen, wasserfrei, mit Schmelzp. 144° und $\alpha_D^{20} = +75{,}2°$.

p-Bromphenylhydrazon, Schmelzp. 184°.

Methylphenylhydrazon, Schmelzp. 181° (Tollens fand 174°, ich 178°).

Äthylphenylhydrazon, Schmelzp. 193°.
Benzylphenylhydrazon, „ 179°.
Diphenylhydrazon, „ 199°.
Phenylosazon, „ 177°.
p-Bromphenylosazon, „ 202—204°.

---

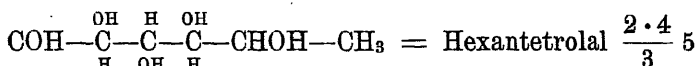
[1]) C. Neuberg, Über die Isolierung von Ketosen. Ber. **35**, 959—966 (1902).

[2]) E. Votoček. — Z. Rüb, **24**, 348. — E. Fischer u. C. Liebermann, Über Chinovose und Chinovit. Ber. **26**, 2415—2420 (1893).

[3]) E. Votoček, Über die Konfiguration der Rhodeose. Ber. **43**, 469—475 (1910). — Derselbe, Über die Glukosidsäuren d. Convolvulins u. die Zusammensetzung der rohen Isorhodeose. Ber. **43**, 476—482 (1910). — Derselbe, Ber. **37**, 3859—3862 (1904) und 4615 (1904). — Derselbe, Z. Böhm, **24**, 248; **25**, 297; **27**, 15, 257. — Derselbe, Über einige Derivate der Rhodeose. Ber. **50**, 35—42 (1917). — Derselbe, Über einige Derivate der Rhodeose (Abbau der Rhodeose). Ber. **50**, 35—42 (1917).

9. Isorhodeose[1])

Diese Methylpentose, optisches Spiegelbild von Iso-Rhamnose, von der Formel:

$$COH-\overset{OH}{\underset{H}{C}}-\overset{H}{\underset{OH}{C}}-\overset{OH}{\underset{H}{C}}-CHOH-CH_3 = \text{Hexantetrolal } \frac{2\cdot 4}{3}\, 5$$

also Methyl-l-Xylose, wurde von Votoček bei der Hydrolyse von Purginsäure aus Convolvulin neben Decylensäure und Oxylaurinsäure erhalten.

$\alpha_D = +31{,}5^0$ (0,5708—6 ccm).
p-Bromphenylosazon, Schmelzp. 222°.
Phenylosazon, „ 190°.

10. Antiarose[2])

Diese mit Rhamnose isomere Methylpentose wird bei der Hydrolyse des Glukosids Antiarin in Sirupform erhalten. Sie ist nur durch ihr kristallinisches antiaronsaures Lakton, mit Sinterpunkt 180° gekennzeichnet. $\alpha_D = -35^0$.

B. Einige Konstante der in den Untersuchungsgang aufgenommenen Monosaccharide

a) Spezifische Drehung (α_D)

Die spezifische Drehung wird im Laurentschen Halbschattenapparat, in 1 dm Schicht (oder 2 dm) bei 20° bestimmt. Weil die Drehung von der Konzentration und von der Temperatur, sowie vom Lösungsmittel abhängig ist, müssen diese jedesmal angegeben werden. Schließlich müssen wir der Mutarotation Rechnung tragen und den Drehungswinkel bestimmen, wenn das Gleichgewicht zwischen den ineinander übergehenden Formen der Monosaccharide sich eingestellt hat.

Für Natriumlicht (D) wird das spezifische Drehungsvermögen nach folgender Formel berechnet:

$$\alpha_D^t = \frac{100 \times \alpha}{l \times p}$$

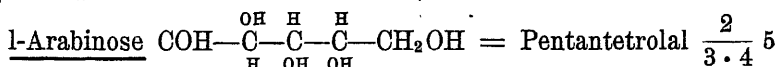
---

[1]) E. Votoček, Über Iso-Rhodeose. Ber. **44**, 819—824 (1911) und bei: Rhodeose. — E. Votoček u. C. Krauz, Abbau der Isorhodeose. Ber. **44**, 3287 bis 3290 (1911).

[2]) H. Kiliani, Über den Milchsaft von Antiarus toxicaria. Arch. **234**, 438 bis 451 (1896).

(t = Temp., α = abgelesener Drehungswinkel, l = Länge des Rohres in dm, p = Anzahl Gramme der Substanz in 100 ccm Lösung bei 15°).

Zum Zwecke der Erhaltung eines richtigen α_D sind folgende Formeln in Verbindung mit Konzentration und Temperatur gegeben worden:

l-Arabinose COH—C(OH)(H)—C(H)(OH)—C(H)(OH)—CH_2OH = Pentantetrolal $\frac{2}{3 \cdot 4}$ 5

$\alpha_D = +108{,}189 - 0{,}3962\,p + 0{,}01389\,p^2$

oder:

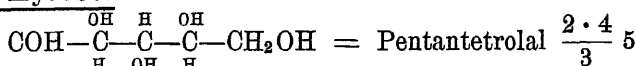
$\alpha_D = +108{,}2 - 0{,}4\,p + 0{,}014\,p^2$ (p = 5—20 und t = 5—20)

In der Regel wird α_D bestimmt für p = 10 und t = 20.

Die in der Literatur verbreiteten Angaben wechseln ziemlich. Nach und nach sind die Grenzen enger geworden und ist jetzt für l-Arabinose maßgebend:

$\alpha_D^{20} = +104—105°$ (p = 10). (Böeseken[1]) 104,4; Armstrong 104)[2]).

d-Xylose.

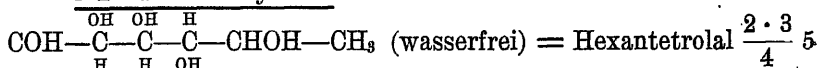
COH—C(OH)(H)—C(H)(OH)—C(OH)(H)—CH_2OH = Pentantetrolal $\frac{2 \cdot 4}{3}$ 5

$\alpha_D = +18{,}09 + 0{,}06986\,p$, für $p < 34{,}3$

$\alpha_D^{10} = +18{,}9$ (p = 10)

$\alpha_D^{20} = +19$, also:

$\alpha_D = +18{,}9—19°$ (Mulliken + 18,7°[3]), Armstrong + 19) (a. a. O.).

l-Rhamnosehydrat.

COH—C(OH)(H)—C(OH)(H)—C(H)(OH)—CHOH—CH_3 (wasserfrei) = Hexantetrolal $\frac{2 \cdot 3}{4}$ 5

Hier ist $p < 40$ von keinem Einfluß.

Für t = 6—20 ist:

$\alpha_D = +9{,}22 - 0{,}03642\,t + 0{,}0000123\,t^2$.

$\alpha_D^{20} = +8{,}5$ ($p < 40$), also:

$\alpha_D^{20} = +8{,}5°$.

Mulliken gibt $\alpha_D = +9{,}43°$ (a. a. O.).

Armstrong „ $\alpha_D = +8{,}9°$ (a. a. O.).

---

[1]) J. Böeseken, Beknopte Scheikunde der suikers. 1918.

[2]) E. F. Armstrong, Die einfachen Zuckerarten und die Glukoside. 1913 (Unna) und englische Ausgabe 1919.

[3]) S. P. Mulliken, Identific. of pure org. Compounds. I, 1914.

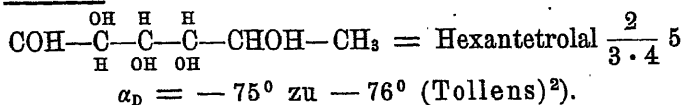
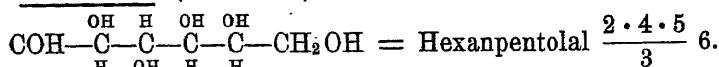
Rosenthaler gibt $\alpha_D = +8{,}3^0$ (etwa)[1].
Böeseken „ $\alpha_D = +8{,}6^0$ (a. a. O.).

Fukose.

$$\mathrm{COH-\underset{H}{\overset{OH}{C}}-\underset{OH}{\overset{H}{C}}-\underset{OH}{\overset{H}{C}}-CHOH-CH_3} = \text{Hexantetrolal } \frac{2}{3 \cdot 4}5$$

$\alpha_D = -75^0$ zu -76^0 (Tollens)[2].

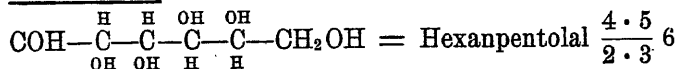
d-Glukose (wasserfrei).

$$\mathrm{COH-\underset{H}{\overset{OH}{C}}-\underset{OH}{\overset{H}{C}}-\underset{H}{\overset{OH}{C}}-\underset{H}{\overset{OH}{C}}-CH_2OH} = \text{Hexanpentolal } \frac{2 \cdot 4 \cdot 5}{3}6.$$

$\alpha_D^{20} = +52{,}5 + 0{,}0188\,p + 0{,}0005168\,p^2$ (p = 10)
$\alpha_D^{20} = +52{,}74^0$ (Schoorl)[3].
$\alpha_D^{20} = +52{,}8^0$ (Mulliken) (a. a. O.).
$\alpha_D^{20} = +52{,}5^0$ (Rosenthaler) (a. a. O.).
$\alpha_D^{20} = +53^0$ (Böeseken) (a. a. O.).
$\alpha_D^{20} = +52{,}2^0$ (Armstrong) (a. a. O.).

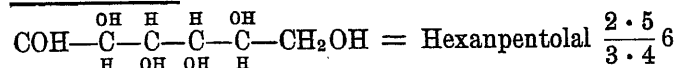
d-Glukosehydrat.

$\alpha_D = +47{,}73 + 0{,}015534\,p + 0{,}0003883\,p^2$
$\alpha_D = +47{,}92$ (Schoorl) (a. a. O.).

d-Mannose.

$$\mathrm{COH-\underset{OH}{\overset{H}{C}}-\underset{OH}{\overset{H}{C}}-\underset{H}{\overset{OH}{C}}-\underset{H}{\overset{OH}{C}}-CH_2OH} = \text{Hexanpentolal } \frac{4 \cdot 5}{2 \cdot 3}6$$

$\alpha_D = +14{,}25^0$ (p = 2, Rosenthaler, Schoorl) (a. a. O.).
$\alpha_D = +14{,}2^0$ (Böeseken) (a. a. O.).
$\alpha_D = +14{,}6^0$ (Armstrong) (a. a. O.).

d-Galaktose.

$$\mathrm{COH-\underset{H}{\overset{OH}{C}}-\underset{OH}{\overset{H}{C}}-\underset{OH}{\overset{H}{C}}-\underset{H}{\overset{OH}{C}}-CH_2OH} = \text{Hexanpentolal } \frac{2 \cdot 5}{3 \cdot 4}6$$

Hier sind p und t von praktischem Einfluß und zwar nach der Formel:

$\alpha_D = +83{,}883 + 0{,}0785\,p - 0{,}209\,t$ (p = ca. 5—ca. 35;
t = 10—30).

Für p = 10 und t = 20 ist:

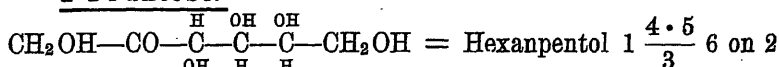
$\alpha_D = +80{,}5$

(Armstrong, Böeseken + 81, Mulliken + 80,3) (a. a. O.).

---

[1]) L. Rosenthaler, Nachw. organ. Verbindungen. 1914.
[2]) B. Tollens, Kurzes Handbuch der Kohlenhydrate. 1914.
[3]) N. Schoorl, Organ. Analyse I.

d-Fruktose.

$$CH_2OH—CO—\overset{H}{\underset{OH}{C}}—\overset{OH}{\underset{H}{C}}—\overset{OH}{\underset{H}{C}}—CH_2OH = \text{Hexanpentol } 1 \frac{4 \cdot 5}{3} 6 \text{ on } 2$$

Die gegebenen Daten weichen voneinander ab. Schließlich ist festgestellt für $p < 40$ und $t = 0—40$:

$\alpha_D = -(101{,}38 - 0{,}56\,t + 0{,}108\,p)$, (Jungfleisch u. Grimbert)[1].

Also für $p = 10$ und $t = 20$:

$\alpha_D^{20} = -91{,}26^0$ (Schoorl) (a. a. O.)

$\alpha_D^{20} = -92{,}9^0$ (Böeseken) (a. a. O.)

$\alpha_D^{20} =$ ca. -92^0 (Rosenthaler) (a. a. O.)

$\alpha_D^{22} = -92^0$ (Armstrong) (a. a. O.).

Angenommen wurde:

$\alpha_D^{20} = -91{,}9 - 0{,}111\,p$ ($p = 1—31$)

Also für $p = 10$ und $t = 20$:

$\alpha_D = -93$.

b) Schmelzpunkte der Monosaccharide

l-Arabinose = 160° (Böeseken, Armstrong, Mulliken, Tollens, Rosenthaler) (a. a. O.).

d-Xylose = 154° (Böeseken) (a. a. O.)

150—154° (Tollens) (a. a. O.)

ca. 150—153° (Mulliken) (a. a. O.)

Rhamnosehydrat = 94° bei vorsichtigem Erhitzen (Rosenthaler) (l. c.).

Fukose = 130—140° (Tollens) (a. a. O.).

d-Glukose (wasserfrei) = 146° (Rosenthaler) (a. a. O.), 147 bis 149° (Böeseken) (a. a. O.), 146° (Mulliken, Tollens) (a. a. O).

d-Mannose = 132° (Rosenthaler, Böeseken, Tollens. (a. a. O.).

d-Galaktose 1 aq. = 118—120° (Rosenthaler, Mulliken) (a. a. O.).

d-Galaktose = 168° (Mulliken) (a. a. O.).

d-Fruktose = 95° (Rosenthaler) (a. a. O.), 94° (Mulliken) (a. a. O.), 95—105° (nach Ost).

c) Die für die Untersuchung benutzten Monosaccharide

l-Arabinose. Diese rührte von „Kahlbaum" her. Ihre Identität folgte aus dem Schmelzpunkt der verschiedenen Hydrazone und Osazone.

[1]) Nach v. Lippmann, Chemie der Zuckerarten. 1904.

α_D war etwa 103° (p = 10). Ihr Schmelzp. 158—159°, der nach Umkristallisierung aus Alkohol auf 160° gerückt wurde.

Xylose. Diese wurde von mir bei der Hydrolyse des mit 2% Ammoniak gewaschenen Weizenstrohs, nach einer Arbeitsmethode, beschrieben in Lippmann 1904, S. 125, erhalten.

Sie war farblos, kristallinisch, frei von Methylpentosen und Hexosen.

α_D war etwa 18,6° (p = 10). Schmelzpunkt nach Trocknung 148°; durch wiederholte Umkristallisierung wurde er nicht erhöht. Ihre Identität folgte aus den Schmelzpunkten der verschiedenen Hydrazone und Osazone.

Rhamnosehydrat. Dieses rührte von „Kahlbaum" her. Es waren farblose, große, harte Kristalle. Seine Identität folgte aus verschiedenen Reaktionen und aus den Schmelzpunkten der verschiedenen Hydrazone und Osazone. Sein α_D war + 8,6° (p = 10). Schmelzp. 93—94°.

Fukose. Diese wurde von mir durch Hydrolyse der ausgewaschenen Zellwände von Fucus vesiculosus nach Müthers Methode (Dissertation, siehe später) über das reine Hydrazon erhalten.

Farblos, kristallinisch. Ihre Identität folgte aus verschiedenen Reaktionen und aus den Schmelzpunkten der verschiedenen Hydrazone und Osazone.

α_D war ungefähr — 76° (p = 6,99). Schmelzpunkt nach Trocknung = 138°.

d-Glukose. Diese rührte als wasserfreie Glukose von „Kahlbaum" her.

Ihre Identität folgte aus verschiedenen Reaktionen und aus den Schmelzpunkten der verschiedenen Hydrazone und Osazone.

α_D = + 52,3° (p = 10). Schmelzp. = 147—149°.

d-Mannose. Diese stammte von „Kahlbaum" her. Ihre Identität folgte aus verschiedenen Reaktionen und aus den Schmelzpunkten der verschiedenen Hydrazone und Osazone.

α_D war + 14,02 (p = 10). Schmelzpunkt = 133° (nach Trocknung).

d-Galaktose. Diese wurde von mir bei der Hydrolyse von reiner Laktose erhalten, indem schließlich die d-Glukose durch Preßhefe vergoren wurde. Nach Umkristallisierung aus konzentriertem Alkohol war ihr:

$\alpha_D = + 81,1^0$ (p = 10). Schmelzp. = 167—168° (nach Trocknung).

Ihre weitere Identität folgte wieder aus den Schmelzpunkten der Hydrazone und Osazone.

d-Fruktose. Diese rührte von „Kahlbaum" her, und war aus Inulin I erhalten.

Ihre Identität folgte aus verschiedenen Reaktionen und aus den Schmelzpunkten der Hydrazinverbindungen.

α_D war — 93,1°. (p = 7,865.) Schmelzp. = 103° (nach Trocknung).

C. d-Glukuron- und d-Galakturonsäure
(und Aldehydschleimsäure)

Es scheint sich immer mehr herauszustellen, daß außer den Monosacchariden Aldehydsäuren als Spaltungsprodukte von Polysacchariden, Glukosiden usw. auftreten. Vor kurzer Zeit war nur von der d-Glukuronsäure die Rede, sei es auch oft auf unvollständige oder sogar falsche Identifizierung.

Im Jahre 1917 erschien nun eine bemerkenswerte Untersuchung von F. Ehrlich[1]), in welcher nachgewiesen wurde, die Pektinstoffe aus Aprikosen, Kirschen usw. seien sehr wahrscheinlich ein Ca-Mg-Salz einer komplexen Anhydro-arabinogalaktose-methoxytetragalakturonsäure, bisweilen mit Methylpentosen im Molekül. Indem Ehrlich (a. a. O.) weiter angibt, daß er die d-Galakturonsäure ebenso unter den Hydrolyseprodukten aus Traganth, arabischem Gummi, Caraghenschleim, sowie aus Mercks Saponin, erhalten habe, ist es jedenfalls klar, daß wir unsere Aufmerksamkeit auch dieser Säure zu widmen haben, indem wir den präziseren, weiteren Veröffentlichungen Ehrlichs, die er sich für diese Materie vorbehalten hat, entgegensehen.

Wo nun sowohl die d-Galakturon-, wie die d-Glukuronsäure die Tollens-Neuberg und Sàneyoshische Naphthoresorzinreaktion geben (siehe später) und in manchen Fällen, in welchen nach einer positiven Naphthoresorzinreaktion ohne weiteres auf d-Glukuronsäure geschlossen wurde, ohne das kristallinische Lakton abzutrennen, Verbindungen zu erhalten und nähere Reaktionen anzustellen, ist es klar, daß in diesen Fällen und noch viel weniger dort, wo

[1]) F. Ehrlich, Die Pektinstoffe, ihre Konstitution und Bedeutung. Chem. Ztg. 41, 197 (1917).

überdies auf d-Glukuronsäure nach der an sich schon unsicheren, ursprünglichen Naphthoresorzinreaktion mit Ätherausschüttelung, geschlossen wurde, der Nachweis an und für sich völlig unsicher ist, ja in chemischem Sinne von einem Nachweis keine Rede sein kann.

Aus den erstgenannten Gründen erachtet Ehrlich (l. c.) die Beweisführung Smolenskis[1]) und nachher Blanchards[2]) und Bulkowsteins[3]), die d-Glukuronsäure gehöre zum Saponinmolekül, ganz richtig für nicht stichhaltig.

Hirschberg[4]) schreibt zwar später, daß nach den Untersuchungen Ehrlichs (a. a. O.) auch das saure Saponin der Zucker- und Futterrübe wohl als Galakturonsäurepaarlinge anzusehen sind, wofern nicht neben den Saponinen vorhandene Pektinstoffe die Reaktion bedingt haben. Das ist aber ebenso unsicher, weil weder für die d-Glukuronsäure, noch für die Gegenwart von d-Galakturonsäure nähere Beweisgründe angeführt worden sind. Auch Ehrlich (a. a. O.) benutzte die unrichtige Ätherausschüttelung.

Weil nun in den genannten Untersuchungen die Ätherausschüttelung der Naphthoresorzinreaktion benutzt wurde, welche sowohl von Glukuron- als auch von Galakturonsäure gegeben wird, aber auch von einigen Monosacchariden, wurde von mir[5]) nochmals darauf hingewiesen, daß nur die Benzolausschüttelung nach Neuberg-Saneyoshi richtige Schlüsse gibt, da die Monosaccharide sicher ausgeschlossen werden, also die Reaktion nur die Glukuronsäuregruppe nachweist, zu welcher die Säuren mit der Konfiguration COH—COOH und — CO— .... COOH, nach Mandel und Neuberg zu rechnen sind.

Das Naphthoresorzin ist also nur ein Gruppenreagens. Wir kommen noch näher darauf zurück, ebenso auf die Ehrlichsche Untersuchung.

Also nicht nur, daß die Forschung aus obengenannten Gründen erschwert wird, jedoch ebenso durch die Tatsache, daß die Säuren die Kristallisierung der Saccharide sehr erschweren, und

---

1) K. Smolenski, Über die gepaarte Glykuronsäure aus der Zuckerrübe. Z. physiol. Ch. 71, 266 (1911).

2) O. Blanchard, Über das Saponin der Futterrübe. In R. Kobert, Neue Beiträge usw. 125—159 (1916).

3) J. Bulkowstein, Beiträge z. Kenntn. d. Wirkungen u. Bestandt. d. Hauhechel. In Koberts Beiträge usw. 26 (1916).

4) E. Hirschberg. In Koberts Beiträge II, 68 (1917).

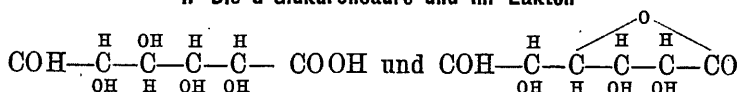
5) A. W. van der Haar, Üb. d. Nachweis der d-Glucuronsäure u. ähnlich sich verhaltenden Säuren mittels der Naphthoresorcinreaktion. Bio 88, 205—212 (1918).

weiter durch die Tatsache, daß die d-Glukuronsäure auf der einen Seite Verwandtschaft mit der d-Glukose zeigt (Zuckersäurereaktion), auf der anderen Seite mit Pentosen (Furfurolbildung), indem die d-Galakturonsäure auf der einen Seite der d-Galaktose verwandt ist (Schleimsäurereaktion), auf der anderen Seite wieder der Pentosen. Beide Säuren sind ja stereoisomer.

Wir werden noch darüber zu sprechen haben, wie wir bei der Ab- oder Anwesenheit genannter Säuren zu verfahren haben.

Hier folgen zuerst die Eigenschaften, Identifizierung usw. der genannten Säuren:

I. Die d-Glukuronsäure und ihr Lakton

$$\begin{array}{ccccccccccc} & & H & & OH & & H & & H & & \\ COH & — & C & — & C & — & C & — & C & — & COOH \\ & & OH & & H & & OH & & OH & & \end{array} \quad \text{und} \quad \begin{array}{ccccccccccc} & & & & \multicolumn{7}{c}{\overbrace{\qquad\qquad O \qquad\qquad}} \\ & & H & & | & & H & & H & & | \\ COH & — & C & — & C & — & C & — & C & — & CO \\ & & OH & & H & & OH & & OH & & \end{array}$$

Vorkommen: Sowohl im Tier-, wie im Pflanzenreich in glukosidischer Bindung (u. a. Euxanthinsäure, Glyzyrrhizin, Scutellarin und Jego-Saponin).

Eigenschaften.

Die Säure: Sirup, leicht in Wasser und in Alkohol löslich. Sie dreht rechts und reduziert Fehlingsche Lösung. Gibt bei der Oxydierung mit Salpetersäure unter anderen d-Zuckersäure; bei Erhitzung mit Salzsäure entsteht Furfurol und Kohlendioxyd. Wird nicht von normalem, sondern von basischem Bleiacetat (Bleiessig) gefällt.

Das Lakton: Wasserklare, dicke, harte, monokline Kristalle, mit Sinterpunkt 167—170° und Schmelzpunkt 175—178°. In Alkohol unlöslich. $\alpha_D^{20} = +19{,}1^0$ ($p = 4$ in Wasser). (Fischer und Piloty[1]). $\alpha_D^{18} = +19{,}25^0$ ($p = 8—14$) (Thierfelder[2]).

Reaktionen und Verbindungen
(Siehe oben bei: Eigenschaften der Säure)

Für die verschiedenen Hydrazinverbindungen siehe Kap. VI. Dort wurde an d-Glukuron, welches ich aus Euxanthinsäure darstellte, studiert, wie das Lakton unter den dort bei den Monosacchariden eingehaltenen Bedingungen sich verhält, um zu erforschen, welche Verbindungen geeignet sind an der Identifizierung der d-Glukuronsäure teilzunehmen, und wann die Säure auf die Identifizierung der Monosaccharide störend einwirken kann.

---

[1] Ber. **24**, 521 (1891).

[2] Z. physiol. Ch. **11**, 398.

Neuberg[1]) erwähnt eine für das d-Glukuron charakteristische Verbindung, das

d-Glukuron-Thiosemikarbazon

Wird einer heißen, konzentrierten, wässerigen Thiosemicarbazidlösung (1/2 g) 1 g festes Lakton zugegeben, so löst sich dieses auf. Nach einigen Augenblicken wird die Flüssigkeit kristallinisch fest. Die Masse wird pulverisiert und mit Alkohol ausgekocht. Die ungelöst gebliebene Verbindung schmilzt bei 223°. l-Arabinose, Xylose, Rhamnose, Glukose, Mannose, Galaktose, Fruktose, Sorbose, Maltose und Laktobiose geben nach Neuberg leichtlösliche Thiosemikarbazone.

Eigenschaften: Nicht oder äußerst schwer in allen Lösungsmitteln, auch in Pyridin, löslich; leicht in heißem Wasser, aus dem es vollständig in 1 cm langen, farblosen, lanzettlichen Nadeln kristallisiert. Optisch aktiv, reduziert kalte ammoniakalische Silber- und heiße Kupfer- und Quecksilberlösung.

Identifizierung:

Im Jahre 1908 wurden[2]) 9 Verbindungen und Eigenschaften in Betracht gezogen, um die d-Glukuronsäure zu identifizieren, indem für den sicheren Nachweis die Summe derer gilt. Dazu ist noch zu rechnen das p-Nitrophenylhydrazon nach Alberda van Ekenstein und Blanksma.

Es sind die 10 folgenden:

1. Die Naphthoresorzinreaktion nach Tollens mit der Benzolausschüttelung nach Neuberg und Saneyoshi (ausführlicher in Kap. III).

2. Die Zuckersäurereaktion (siehe Kap. IV).

3. Die Pentosenspektralreaktionen (siehe Kap. III).

4. Reduktion der Fehlingschen Lösung, und zwar fast augenblicklich in der Kälte. (Unterschied von d-Fruktose, die erst in 1/2 bis 1 Stunde zu reduzieren beginnt). (Siehe ausführlicher Kap. IV Qual. Teil 2, Ketosenreaktionen).

5. Rechtsdrehung, und α_D Lakton $= + 19{,}1^\circ$.

6. Schmelzpunkt des Laktons, nach Umkristallisierung aus Äthylacetat 175°.

---

[1]) Nach von Lippmann, Die Chemie der Zuckerarten I. 367 (1904).

[2]) A. W. van der Haar, Bio. 88, 205—212 (1918).

7. Das p-Bromphenylosazonglukuronsäure-Baryum nach Goldschmiedt und Zerner[1]). (Siehe Kap. VI B. c). Ich fand jedoch einen Schmelzpunkt 208—210°, statt 216° von G. und Z. Weiter sei bemerkt, daß Rhamnose, Glukose und Fruktose gleichfalls niedergeschlagen werden als p-Bromphenylosazon, welche ebenso schwer löslich in starkem Alkohol sind. Xylose, Arabinose und Fruktose stören nicht, weil ihre p-Bromphenylosazone in Alkohol leicht löslich sind. d-Mannose und d-Galaktose stören durch hartnäckig Widerstand bietende Hydrazonbildung. Das genannte Osazon der Rhamnose schmilzt bei 218°, manchmal 216°, das der Fruktose und der Glukose bei 215—216°, ersteres manchmal bei 214° (siehe Kap. VI B. 3, 5, 6, 7 und 8).

8. Die Säure wird nicht von normalem, sondern von basischem Bleiazetat (Bleiessig) gefällt.

Wir werden in Kap. IX zu erfahren haben, wie vorteilhaft diese Eigenschaft ist, sie von den Monosacchariden möglichst zu trennen.

9. Das Cinchoninsalz nach Neuberg[2]) hat $\alpha_D = +138{,}6^0$ ($c = 2{,}02$) und Schmelzpunkt 204°.

a) Wenn reine d-Glukuronsäure vorliegt:

Die wässerige Laktonlösung wird mit einer heißen, wässerigen oder alkoholischen Cinchoninlösung neutralisiert. Nach Konzentrierung der Lösung kristallisiert das Cinchoninsalz aus.

b) Wenn eine unreine Lösung vorliegt:

Die unreine Lösung wird zum Sirup eingedampft. Dieser wird mit heißem Alkohol ausgezogen und mit Tierkohle entfärbt usw. Nach Konzentrierung wird für die Abscheidung der Verbindung mit einem Glasstabe gerieben. Noch einmal aus heißem Wasser mit Tierkohle umkristallisiert, werden farblose Nädelchen erhalten.

c) Trennung der d-Glukuronsäure von den Sacchariden:

Einer verdünnt-wässerigen Lösung der d-Glukuronsäure werden bei der Siedetemperatur sehr kleine Mengen festen Cinchonins zugegeben, bis die Flüssigkeit gerade alkalisch ist. Bei der Abkühlung scheidet sich das Übermaß Cinchonin aus.

---

[1]) G. Goldschmiedt und E. Zerner, Über die Einwirkung von p-Bromphenylhydrazin auf Glucuron. M. 33, 1217—1231 (1912).

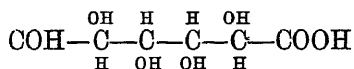
[2]) C. Neuberg, Ber. 33, 3322 (1900).

Die Flüssigkeit wird mit nicht zu wenig Äthylacetat oder Chloroform ausgeschüttelt. Nach Konzentrierung und öfterem Reiben mit einem Glasstabe oder nach Impfung der wässerigen Flüssigkeit kristallisiert das Cinchoninsalz aus.

Nach Neuberg (a. a. O.) kann sie in dieser Weise von der l-Arabinose und der d-Glukose getrennt werden.

10. Das p-Nitrophenylhydrazon nach Alberda van Ekenstein und Blanksma (siehe Kap. VI A. 9. *α*). Es sei bemerkt, daß alle genannten Monosaccharide, außer Xylose ein p-Nitrophenylhydrazon abscheiden (Kap. VI).

2. Die d-Galakturonsäure

```
     OH  H   H   OH
COH—C——C——C——C—COOH
     H   OH  OH  H
```

Diese Verbindung ist bisher wenig studiert. Die Schwierigkeit ihrer Forschung liegt in der Tatsache, daß sie weder selber kristallisiert, noch ein kristallinisches Lakton gibt.

Zurzeit ist bekannt, daß sie mit d-Glukuronsäure die fast augenblickliche Reduktion der Fehlingschen Lösung in der Kälte, die Naphthoresorzinreaktion und die Pentosenreaktionen gemeinschaftlich hat. Sie unterscheidet sich von der d-Glukuronsäure durch die Bildung von Schleimsäure bei der Oxydierung mit Salpetersäure.

Es liegt jetzt die Ehrlichsche Untersuchung (a. a. O.) vor, über die Anwesenheit der d-Galakturonsäure in zusammengesetzten Molekülen. Indem wir eine weitere Untersuchung Ehrlichs abwarten, ist folgendes daraus zu entnehmen:

Es scheidet sich kein p-Bromphenylosazon ab. Ihre Alkaloidsalze sind besser löslich als die der d-Glukuronsäure. Das Cinchoninsalz schmilzt bei 158° und α_D ist $= +134°$. Ehrlich (a. a. O.) gibt folgenden Unterschied mit d-Galaktose, mit welcher sie die Schleimsäurebildung gemein hat:

„d-Galakturonsäure wird durch Sättigung ihrer wässerigen Lösung mit Brom bei gewöhnlicher Temperatur zu Schleimsäure oxydiert; d-Galaktose nicht". Bei höherer Temperatur wird auch die d-Galaktose oxydiert."

Weil mir keine reine Galakturonsäure zur Verfügung stand, habe ich Obenstehendes nicht kontrollieren können. Ich konnte mich aber davon überzeugen, daß d-Galaktose nicht zu Schleimsäure oxydiert wird. Wir werden später die Bromoxydierung für den Nachweis der Galakturonsäure benutzen.

Ehrlich (a. a. O.) gibt an, daß er die d-Galakturonsäure wie folgt in Pektinen nachwies: „Die Substanz wird im geschlossenen Rohr während 6 Stunden mit einer 25fachen Menge 5prozentiger Bromwasserstoffsäure und der fünffachen Menge Brom auf 100° C. erhitzt." Schleimsäure entstand.

Obschon ich dies aus obengenanntem Grund nicht näher kontrollieren konnte, kommt mir die letzte Identifizierung unsicher vor; Ehrlich (a. a. O.) selber gibt an, daß die d-Galaktose bei erhöhter Temperatur von Brom zu Schleimsäure oxydiert wird, so erscheint mir die oben genannte Reaktion äußerst gewagt, d. h. Galaktose kann hier leicht Galakturonsäure vortäuschen.

Sonst ist die Galakturonsäure für ihre Identifizierung durch die Summe der oben genannten Reaktionen und durch 1, 3 und 4 bei „Glukuronsäure" genügend gekennzeichnet. Wie wir noch erfahren werden, ist aber weiter aus der Gärprobe mit Laktosehefe, der Schleimsäurebestimmung und der CO_2-Methode Lefèvres mit Sicherheit auf d-Galakturonsäure zu schließen (siehe Kap. X bei Traganth).

3. Aldehydschleimsäure

Dieses Isomer der d-Glukuronsäure kommt nach den Angaben von Suarez[1]) gebunden in Zitronen vor. Ehrlich (a. a. O.) schreibt, sie sei scheinbar mit seiner d-Galakturonsäure identisch. Nach Hydrolyse mit verdünnter Schwefelsäure wurde sie über das Baryumsalz als ein aschefreier, stark saurer Sirup erhalten, welcher kein kristallinisches Anhydrid gab, kein p-Bromphenylosazon, weder nach Neuberg (a. a. O.), noch nach Goldschmiedt und Zerner (a. a. O.). Die Pentosenreaktionen fielen positiv aus, sowie die Tollenssche Naphthoresorzinreaktion. Es wurde leider nicht angegeben, ob mit Äther oder mit Benzol ausgeschüttelt wurde, was von entscheidender Wichtigkeit ist, wie wir gesehen haben (siehe auch Kap. III). Sie wird mit Salpetersäure zu Schleimsäure oxydiert und wird von Bleiessig gefällt.

Näheres über diese Verbindung ist abzuwarten.

[1]) M. L. Suarez, Ein Isomeres der Glucuronsäure. Chem. Ztg. 41, 87 (1917).

Kapitel II

A. Über Identifizierung im allgemeinen und die der Saccharide mittels ihrer Hydrazinverbindungen im besonderen

Für die Identifizierung eines chemischen Körpers kann, in theoretischem Sinne, jede seiner Eigenschaften herangezogen werden; schon eine Eigenschaft würde ausschlaggebend sein, wenn unsere Beobachtung vollkommen wäre, und die bestimmte Eigenschaft für den zu identifizierenden Körper charakteristisch.

Weil unsere Beobachtung nicht absolut ist, und ein chemischer Körper nur selten eine Eigenschaft besitzt, welche keinem der anderen Körper zukommt, dürfen wir wohl behaupten, daß für Identifizierung mehrere Eigenschaften herangezogen werden müssen. Wird die Anzahl der zu studierenden Eigenschaften so groß wie möglich genommen, so ist die Identifizierung am meisten einwandfrei zu betrachten. Nun ist es aber für die nach unseren heutigen Begriffen einwandfreie Identifizierung keine Bedingung, alle Eigenschaften zu studieren; es mag genügen, einige mehr oder weniger charakteristische dafür auszuwählen. Über die erforderliche Anzahl ist im allgemeinen nicht viel zu sagen; sie ändert sich für jede Identifizierung, welche man beabsichtigt; wenn jedoch so viele mehr oder weniger spezifische Eigenschaften herangezogen werden, daß die jetzigen Auffassungen über Identifizierung volle Befriedigung finden, so ist sie wohl als sicher zu betrachten. Wir haben nicht zu ruhen, bevor wir uns diese Auffassungen zu eigen gemacht haben, Auffassungen aus der Literatur oder anderswo erworben und an eigenem chemischen Denken geprüft.

Wenn die Saccharide in fester Substanz vorliegen, gilt für ihre Identifizierung dasselbe wie für jeden anderen chemischen Körper, wobei wir ins Auge zu fassen haben, daß durch ihre Isomerisationen Schwierigkeiten entstehen.

Bei der Identifizierung der Saccharide, wie sie bei phytochemischer Forschung oft vorliegen, werden die gewöhnlichen Nachweismittel unsicher, ja oft ganz in ihrer Wirkung gehemmt.

Erstens treten bei phytochemischer Untersuchung die Saccharide meistens gesellschaftlich auf und zweitens, was das Wichtigste ist, sind sie fast immer mehr oder weniger stark verunreinigt, wodurch Kristallisationen oft ausbleiben, oder mangelhaft auftreten, drittens ist die erhaltene Menge nur in wenigen Fällen ausreichend, um die Saccharide durch wiederholte Umkristallisierung zu reinigen und zu trennen. In all diesen Fällen ist es ja ebensogut erwünscht, ihre Identifizierung herbeizuführen. Wir sind darum E. Fischer und seinen Schülern, und so vielen Anderen für die verschiedenen Hydrazone und Osazone, welche sie uns verschafft haben, zu Dank verpflichtet. Vor diesem Zeitpunkt haben wir ja die Verwirrung bei der Identifizierung von Sacchariden, welche man nicht oder nur sehr mangelhaft kannte, gesehen.

Wenn wir die kristallinischen Verbindungen der Saccharide überblicken und überlegen, welche für Identifizierung am geeignetsten und am wenigsten täuschend sind, so sehen wir, daß es die Fülle einfacher und zusammengestellter Hydrazine ist, und nicht die Acetate usw., Methylester usw., Oxime, Semikarbazone usw.

Indessen ist für die praktische Identifizierung mittels ihrer Hydrazinverbindungen eine vorangehende, allgemeine Orientierung von großem Nutzen, nämlich die Erhaltung anderer kristallinischer Verbindungen, wie die Schleimsäure aus d-Galaktose und d-Galakturonsäure, das saure zuckersaure Kalium aus d-Glukose und d-Glukuronsäure, indem weiter die Alles- oder Nichtsvergärbarkeit durch Preßhefe und andere Hefen, ein bedeutendes Gruppenreagens ist, neben den allgemeinen Pentosen- und Hexosenreaktionen, wie Spektral- und Farbenreaktionen usw.

Der Wert, welchen die Hydrazine für die Identifizierung besitzen, wird nicht durch die Elementaranalyse der erhaltenen Verbindungen bestimmt, weil ihre prozentischen Zusammensetzungen zu wenig voneinander abweichen. Höchstens kann diese Bestimmung als eine nähere Kontrolle auf ein schon abgetrenntes und nachgewiesenes Hydrazon oder Osazon herbeigeführt werden. Direkten Identifizierungswert besitzt sie nicht. Ebenso hat die Tatsache, daß die meisten Hydrazone und Osazone ein bestimmtes Drehungsvermögen besitzen, für die Identifizierung geringen Wert. Was über die Elementaranalyse geschrieben ist, ist auch hier geltend. Im allgemeinen aber hat jede nähere Bestätigung einer beobachteten Erscheinung ihren Wert und dürfen wir kein einziges mögliches Mittel dazu versäumen.

Bei der Identifizierung von Sacchariden insbesondere kommt es bei beschränktem Material darauf an, nur die beweisführenden Identifizierungsmittel anzuwenden und die vorhandene Substanz nicht durch wenig aussagende Verbindungen zu zersplittern.

Der Hauptwert bei der Identifizierung soll auf die Schmelzpunktbestimmung einer größtmöglichen Anzahl Hydrazone und Osazone gelegt werden, aus welcher Bestimmung wir den Schluß ziehen können, mit welchem Saccharid wir zu tun haben; zu gleicher Zeit den Löslichkeitsunterschied verschiedener Hydrazone und Osazone der verschiedenen Saccharide in den gebräuchlichen Lösungsmitteln benutzend, hierdurch Trennungen auszuführen und so zu reinen chemischen Körpern zu gelangen.

Wenn ein erhaltener Schmelzpunkt eines Hydrazons oder Osazons eines zu identifizierenden Saccharids mit dem Schmelzpunkte der entsprechenden Verbindung eines bekannten Saccharids übereinstimmt und also nichts mehr als eine Vermutung auf dieses Saccharid zuläßt, erlangt der Schmelzpunkt größeren Wert, wenn der Schmelzpunkt der entsprechenden Verbindung des bekannten Saccharids, als Mischprobe, unverändert bleibt. Wo z. B. Arabinosazon und Xylosazon ungefähr denselben Schmelzpunkt besitzen, wird dieser der Mischprobe beider Osazone eine Erniedrigung erfahren, wodurch Strukturunterschiede ans Licht kommen. Wenn also der Schmelzpunkt der Mischprobe sich nicht ändert, gewinnt die Identifizierung des gesuchten Saccharids sehr an Bedeutung. Wird nun diese völlige Übereinstimmung bei der größtmöglichen Anzahl Hydrazone und Osazone erhalten, so können wir nach unseren heutigen Begriffen die Identifizierung als unzweideutig erklären. Daß die Literatur voller Schein-Identifizierungen ist, ändert nichts an dem Werte oben angedeuteter Identifizierungsmittel. Wenn es uns nun gelingen würde, bei genügendem Material die Saccharide einzeln zu bekommen, sei es durch direkte Kristallisierung oder über die Hydrazone, um so besser. Schmelzpunkt und α_D können dann bestimmt werden, es bleibt aber nötig, auch dann noch die Hydrazinverbindungen zu Hilfe zu rufen; mir ist ein Fall bekannt, wo Schmelzpunkt und α_D eines abgeschiedenen Saccharids für seine Identifizierung nicht ausreichten, ja, sogar irreführend waren (α-Hederinzucker).

Als Endziel aller Betrachtungen kommt es also darauf an, den richtigen Schmelzpunkt zu bestimmen. Bei den Hydrazonen

und Osazonen entsteht hierbei die Schwierigkeit, mehr noch als bei anderen Substanzen, daß der Schmelzpunkt von der Schnelligkeit des Erhitzens abhängt, und was er mit anderen Substanzen gemein hat, von der Umkristallisierungsmethode. Was die letztere anbetrifft, kann Unsicherheit beseitigt werden, durch die Angabe, aus welcher Flüssigkeit und in welcher Weise die Kristallisierung stattgefunden hat.

Die voneinander abweichenden Schmelzpunkte, welche oft für ein und dieselbe Verbindung gegeben werden, dürfen aber nicht als ein Maßstab für die Schärfe, mit welcher die Schmelzpunkte bestimmt werden können, betrachtet werden. Erstens können wir aus erhaltenen Daten den Schluß ziehen, daß der Schmelzpunkt ungenau bestimmt worden ist; zweitens kommt es oft vor, daß Schmelzpunkte von Substanzen gegeben werden, deren Reinheit nicht oder ungenügend festgestellt worden ist, ohne daß dies angegeben wurde, ja, wo sogar bekannt war, daß die Substanz nicht rein sein konnte. Infolgedessen findet man in mehreren Handbüchern usw. oft sehr abweichende Schmelzpunkte nebeneinander. Es wäre wünschenswert, die historisch gewordenen Daten nur als solche festzulegen.

Die Schmelzpunktbestimmung der Hydrazone und Osazone fordert mehr Übung, als bei den meisten anderen Substanzen. Bevor man sich dazu entschließt, einem gefundenen Schmelzpunkte eines Hydrazons oder Osazons Identifizierungswert beizulegen, ist es nötig, sich gut im Bestimmen des Schmelzpunktes eines bekannten, reinen Hydrazons oder Osazons zu üben, dabei stets unter gleichen Bedingungen arbeitend, den Sinterungspunkt aufzeichnend, diesen jedoch nicht mit dem Schmelzpunkte verwechselnd, bei welchem die Substanz meistens aufbraust oder als ein Tropfen an der Wand des Kapillarröhrchens zusammenschmilzt oder zur Spitze gleitet.

All diese Faktoren haben viel dazu beigetragen, daß einige Autoren die Schmelzpunktbestimmungen der Hydrazone und Osazone weniger günstig beurteilt haben.

Ungeachtet dieser Tatsache muß festgestellt werden, daß die Untersuchung in dieser Richtung sich sehr ausgedehnt und gute Früchte abgeworfen hat.

Ein bekannter Vorteil ist, daß wenig Substanz für die Schmelzpunktbestimmung genügt.

Der Hauptfaktor bei der Identifizierung ist also, daß der Schmelzpunkt der reinen Substanz richtig bestimmt werden muß

und stets auf gleichförmige Weise. Es erscheint mir daher wünschenswert, die Allgemeinheiten und die Einzelheiten der Schmelzpunktbestimmung etwas näher zu beleuchten.

B. Schmelzpunktbestimmung

1. Für unseren Zweck genügt es, die Schmelzpunkte der Hydrazone und Osazone bis auf 1° C genau zu bestimmen.

2. Der Schmelzpunkt soll nicht zaghaft bestimmt werden, sondern ziemlich schnell und regelmäßig, worauf E. Fischer hingewiesen hat.

3. Die Schmelzpunkte wurden von mir in folgender Weise bestimmt:

> „Bei der ersten Bestimmung (Orientierungs- oder vorläufiger Schmelzpunkt) wird der Schmelzpunkt „ungefähr“ durch schnelle Steigerung der Temperatur bestimmt, der Apparat etwas abkühlen gelassen, ein neues Röhrchen angebracht, einen Augenblick gewartet und dann vorsichtig weiter erhitzt, bis die Substanz schmilzt, wobei man Sorge zu tragen hat, daß die Temperatur nur wenig über den Schmelzpunkt hinaus steigt.“

4. Ein vornehmer Faktor ist weiter, daß, um vergleichbare Schmelzpunkte zu erhalten, es unbedingt erforderlich ist, einen internationalen Schmelzpunktapparat zu benutzen. Auf diesem Gebiete herrscht wenig Übereinstimmung. Die Franzosen benutzen oft den „Bloc Maquenne“. Andere wieder andere Apparate. Große Verwirrung entsteht auch dadurch, daß der eine Forscher korrigierte, der andere unkorrigierte Schmelzpunkte gibt, oft ohne es dabei zu erwähnen.

Für richtige Beurteilung des Schmelzpunktes ist es natürlich erforderlich, „wahre“ Schmelzpunkte zu geben, also korrigierte. Der beste Apparat, der bei richtiger Handhabung, genügend genau korrigierte Schmelzpunkte ergibt, ist der Rothsche Apparat (Fig. 1).

Als Erhitzungsflüssigkeit ist Paraffinöl (Paraffinum liquid.) starker Schwefelsäure vorzuziehen, wegen der geringeren Gefahr beim Zerbrechen und des größeren Ausdehnungskoeffizienten, welcher eine mit dem Ansteigen des Quecksilberfadens gleichen Schritt haltende Ansteigung des Paraffins verursacht. Dadurch wird die Luft um das Thermometer herum gleichmäßig erwärmt. Besonders bei der Bestimmung höher liegender Schmelzpunkte ist dieser größere Ausdehnungskoeffizient von großer Wichtigkeit, weil der

Apparat alsdann nur bis wenig über der Kugel mit Paraffin gefüllt zu werden braucht, um für alle Schmelzpunkte dienen zu können. Um Schmelzpunkte bis zu etwa 325° bestimmen zu können, Schmelzpunkte, welche zwar bei Hydrazonen und Osazonen nicht in diesem hohen Grade vorkommen, ist es erforderlich, ein Stabthermometer bis 360° zu wählen und einen Rothschen Apparat, welcher etwas länger wie gewöhnlich ist, anfertigen zu lassen. Ich habe mir einen Apparat anfertigen lassen, dessen Kugel ± 7 cm Durchmesser besaß, und die Länge des Halses oberhalb der Kugel bis an dessen Verjüngung 28 cm. Der Hals hat 3 cm, das innere Rohr 2 cm lichte Weite.

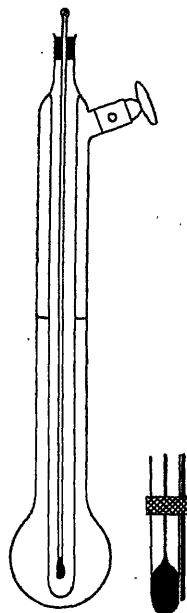
Fig. 1.

Das in ganze Grade eingeteilte Thermometer wird auf 0 und 100° kontrolliert und nötigenfalls auf zwischen- und höherliegende Schmelz- oder Siedepunkte bekannter, reiner Substanzen.

Die Substanz, deren Schmelzpunkt bestimmt werden soll, wird in ein engwandiges Kapillarröhrchen, das mittels eines Stückchens dickwandigen Gummirohrs für Temperaturen bis 180° oder eines Platindrahtes für höhere Temperaturen in der Mitte der kurzen Quecksilberkugel angebracht wird, gegeben. Sie soll eine Schicht von nur einigen Millimetern Länge bilden.

Wenn nun stets dafür Sorge getragen wird, daß der Meniskus des Paraffins etwas höher als der Quecksilbermeniskus steht, so erhalten wir für unsern Zweck genügend genau korrigierte Schmelzpunkte. Die Kugel des Apparates wird mit freier Flamme erhitzt, wodurch wir bei einiger Übung die Aufsteigung des Quecksilberfadens leicht beherrschen können.

Ich schlage vor, übereinzukommen, den Rothschen Apparat für Schmelzpunktbestimmungen nach angegebenen Dimensionen für internationalen Gebrauch einzuführen. Meiner Überzeugung nach wird dann die Vergleichbarkeit der Schmelzpunktwerte in bemerkenswerter Weise erhöht werden.

Wenn wir die Vorteile, welche bei vielen chemischen Arbeiten schon international errungen sind, in Betracht ziehen, so ist auch eine Übereinkunft auf dem so sehr wichtigen Gebiete der Schmelzpunktbestimmung mit gutem Willen leicht zu erzielen.

Kapitel III

(Pentosen, Methylpentosen, d-Glukuronsäure, d-Galakturonsäure und Aldehydschleimsäure)

A. Qualitativer Teil

a) Spektralanalytische Untersuchung der Pentosen (inkl. d-Glukuronsäure, d-Galakturonsäure und Aldehydschleimsäure) und Methylpentosenreaktionen

Für den Nachweis von Pentosen und Methylpentosen und zugleich für die Unterscheidung beider sind einige Farbenreaktionen gegeben, welche nicht von Hexosen hervorgerufen werden; sie sind also für Pentosen und Methylpentosen und wie diese reagierenden charakteristisch zu bezeichnen. Die Bedeutung dieser Farbenreaktionen wird bedeutend erhöht dadurch, daß sie sich für spektralanalytische Untersuchung bewährt haben, ja erst hierdurch ihren eigentlichen Wert für die Identifizierung von Monosacchariden erreichen.

Während die Farbenreaktionen der Hexosen auf der Abspaltung von ω-Oxymethylfurfurol beruhen, werden sie bei den Pentosen durch die Abspaltung von Furfurol und bei Methylpentosen von Methylfurfurol hervorgerufen.

Die für die Unterscheidung von Pentosen und Methylpentosen gegebenen Reaktionen sind von großer Bedeutung, wenn man sich von der An- oder Abwesenheit beider überzeugen will; sie dienen als Gruppenreagens, als Vorprobe. Indessen haben nicht alle bekannten Reaktionen gleiche Bedeutung; einige sind sogar geringen Wertes. Weiter müssen wir überlegen, daß die Reaktionen von anderen Sacchariden beeinflußt werden, so daß die Empfindlichkeit und Zuverlässigkeit mehr oder weniger ungünstig beeinflußt werden. Bei negativem Ausfall einer Reaktion darf aus diesem Grunde noch nicht immer auf die Abwesenheit irgend eines Saccharids geschlossen werden.

Wenn wir uns von der An- oder Abwesenheit einer Saccharidgruppe zu überzeugen haben, ist es Bedingung, mehrere Reaktionen

anzuwenden, und erst aus der Summe der dabei erhaltenen Daten Schlüsse zu ziehen. Unannehmlichkeiten infolge zu großen Substanzaufwands kann dies nicht verursachen, weil es nicht nur wünschenswert ist, mit kleinen Mengen Substanz zu arbeiten, sondern das ist hier eine erste Bedingung. Erstens sind die Spektralreaktionen sehr empfindlich, zweitens wird dem Auftreten von Niederschlägen, drittens dem unliebsamen Einfluß der Nebenreaktionen, welche sonst bei Einwirkung größerer Mengen auftreten, möglichst vorgebeugt.

Es ist wünschenswert, etwas ausführlicher bei diesen spektralanalytischen Reaktionen stehen zu bleiben und diese an verschiedenen Saccharidgemischen zu prüfen, um zu erforschen, was jede Reaktion für sich in ihrer praktischen Brauchbarkeit zu leisten imstande ist.

Es ist meiner Meinung nach überflüssig, jedes denkbare Gemisch zu studieren; wir können ja eine genügend befriedigende Übersicht erhalten, wenn einige gut gewählte Gemische untersucht werden, besonders, wenn wir für eine bestimmte Reaktion weniger günstige Verhältnisse heraussuchen.

Im voraus sei gesagt, daß alle noch zu nennenden Versuche mit geringen Monosaccharidmengen ausgeführt worden sind. In Kap. X wird erörtert, wie mit den Sacchariden durch Hydrolyse von 1 g Polysaccharid oder Glukosid nach Vorbereitung der Flüssigkeit usw. alle Pentosen- und Methylpentosenreaktionen ausgeführt werden können.

1. Allgemeine Bemerkungen zu den Spektralreaktionen

Die Reaktionen wurden in Reagenzröhren gebräuchlicher Größe ausgeführt. Die Flüssigkeit, in welcher infolge einer Reaktion eine Farbe aufgetreten war, oder die gefärbte Ausschüttelflüssigkeit wurden in gradwandigen Fläschchen, von 2 cm bei 4 cm Durchmesser gefüllt und vor den Spalt eines Spektroskops gebracht. Die Flüssigkeit kann also bequem in 2 cm und 4 cm dicker Schicht beobachtet werden. Als Spektroskop diente ein Bunsensches von der Firma Desaga in Heidelberg. Die Spektra, welche erhalten werden, sind bekanntlich Absorptions- oder Bandenspektra, im kontinuierlichen Spektrum, z. B. einer Öllampe, welche entstehen, wenn dunkle, breitere oder schmälere Banden durch Absorbierung von Licht bestimmter Wellenlänge aus dem durch die Flüssigkeit hindurchgegangenen Lichte auftreten.

Weil die Reaktionsflüssigkeiten von verschiedener Farbe sind, wird stets Licht bestimmter Wellenlänge absorbiert; deshalb haben die Banden eine bestimmte Lage im Spektrum, welche für die betreffende Reaktion charakteristisch ist. Es sei bemerkt, daß nichtcharakteristische Verdunklung der rechten Hälfte des Spektrums nicht erwähnt wird.

Zwecks Bestimmung der Lage der Banden ist bekanntlich im dritten Rohr des Spektroskopes eine verteilte Skala angebracht, welche durch Reflexion auf das Prisma, im Fernrohr, zugleich mit dem Spektrum aus der Kollimator sichtbar ist. Weil verschiedene Spektroskope abweichende Skala besitzen, ist es ratsam, die Lage der Banden in einer bestimmten Skala auszudrücken, wofern man nicht einen richtigen Maßstab besitzt, durch welchen in jedem willkürlich gewählten Spektroskope die Lage bestimmt werden kann. Wir besitzen dafür ein wichtiges Hilfsmittel in der Lage, welche die hellen Linien, die Metallsalze in die farblose Flamme der Bunsenschen Lampe gebracht, hervorrufen, im Spektrum einnehmen; die Lage dieser hellen Linien (bei enger Spalte beobachtet) ist ja in jedem Spektroskope unabhängig jeder Skaleneinteilung, wiederzufinden; in jedem Spektroskope ist also leicht zu sehen, mit welchem Teilstriche eine helle Linie, von einem Metallsalz hervorgerufen, zusammenfällt.

Ich wählte dafür Linien, welche leicht zum Vorschein gebracht werden können und also unserem Zwecke am besten dienlich sind, nämlich: K_α, Li_α, Sr_α, Na, Tl, Sr_δ oder Cs_α und Cs_β.

In dem von mir benutzten Spektroskope fand sich:

K_α	auf	4,7	im Rot
Li_α	„	5,7	im Rot
Sr_α	„	6,7	im Rot
Na	„	7	„ Gelb
Tl	„	8,25	„ Grün
Sr_δ	„	10,8	„ Blau
Cs_α	„	11	„ Blau

2. Ortsbestimmung der Absorptionsbanden

Es würde am rationellsten sein, die Lage dieser Banden in Wellenlängen auszudrücken; für unsern Zweck aber hat es geringen Wert, weil ihre Ausdehnung, d. h. ihre Breite von allerlei Faktoren abhängig ist, welche uns bei der Identifizierung von Monosacchariden meistenteils unbekannt sind; überdies sind die Begrenzungen

der Banden meistens unscharf. Wir müssen aber in Betracht ziehen, daß das Studium der Banden selbst nicht unser Ziel ist, sondern nur ihre Stellung im Spektrum. Es ist ebensowenig erwünscht, die Stelle der größten Dunkelheit zu bestimmen.

Für unsern Zweck ist es reichlich genügend, die richtige Stelle ohne Begrenzung anzudeuten, d. h. anzudeuten, welche der genannten hellen Linien mit den Banden zusammenfallen würden, oder zwischen welchen sie gelegen sein würden, zu gleicher Zeit die

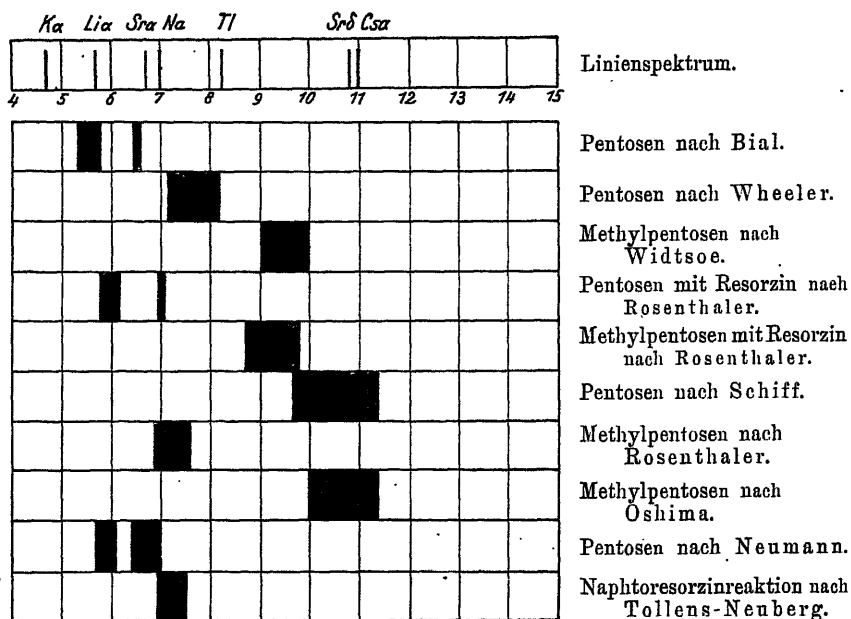



Fig. 2.

Skaleneinteilung zu Hilfe rufend. In Fig. 2 sind die Banden, bei den noch zu besprechenden Reaktionen erhalten, wiedergegeben.

Es sei nochmals erwähnt, daß die Zeichnung nicht genau die Breite und die Tiefe der Banden wiedergibt. Wo gegebenenfalls zwei Banden verschiedener Dunkelheit entstehen, sind sie als solche im Texte wiedergegeben. Die Zeichnungen machen also nur plausibel, wo die Banden sich im Spektrum befinden, in bezug auf die Stelle der hellen Linien.

Die Handhabung des Spektroskops wird als bekannt vorausgesetzt, und wird auf Handbücher verwiesen.

3. Spektral-Reaktionen, welche von Pentosen (inkl. d-Glukuronsäure, d-Galakturonsäure und Aldehydschleimsäure) und Methylpentosen hervorgerufen werden.

Orzin-Reaktion nach Bial[1])

Die von Reichl[2]) empfohlene salzsaure Orzinlösung, für welche auch Allen und Tollens[3]) eine Vorschrift gegeben haben, wurde von Bial (a. a. O.) verbessert und empfindlicher gemacht durch die Hinzufügung von Ferrichlorid, und die Säuremenge usw. wurde so gewählt, daß nach ihm die d-Glukuronsäure hierdurch nicht nachgewiesen wird.

Lefèvre[4]) fand praktisch keinen Unterschied, so daß auch die d-Glukuronsäure in derselben Weise nachgewiesen wird.

Pieraerts[5]) benutzt Orzin in alkoholischer Lösung und erhitzt mit Salzsäure, die dabei störende Fruktose wird zuvor vergoren. 5 ccm einer 1—5 %igen Saccharidlösung werden mit 3 Tr. Orzin (3 g Orzin — 20 ccm mit Alkohol) und 5 ccm konzentrierter Salzsäure während 15 Minuten auf dem Wasserbade erhitzt.

Middendorp[6]) benutzt eine 20 %ige Orzinlösung in Alkohol, nach Schaffer und Philippe, und erhitzt mit Salzsäure.

Es ist also nicht das Bialsche Reagens.

Die Oxymethylfurfurol- und Furfurolspektra wurden beschrieben.

Weil das Bialsche Reagens am meisten angewandt worden ist, wollen wir es weiter besprechen.

Das ursprüngliche Reagens hat in einigen Hinsichten Änderung erfahren.

Das hier benutzte Reagens bestand aus einer Lösung von 1 g Orzin in 500 ccm 25%iger Salzsäure und 1,5 Teilen einer 10%igen Ferrichloridlösung in Wasser, wie es in Schoorl, Organ. Analyse usw. beschrieben ist.

Ausführung der Reaktion:

Wird einer *Pentosen*lösung in Wasser, so viel Reagens zugegeben, daß die Lösung etwa 18 % Salzsäure enthält, und während einiger Minuten gekocht, so färbt sich die Flüssigkeit blaugrün oder blau, welche Farbe beim Schütteln mit furfurolfreiem Amylalkohol oder mit Amylenhydrat (in diesem Falle nachher mit Wasser verdünnen) in diesen übergeht.

---

[1]) M. Bial, Die Diagnose der Pentosurie. *Med. Woch.* **28**, 253 (1902).

[2]) C. Reichl, durch Jahresber. d. Chemie. Herausgegeben von Fittica 1880, S. 1214. Eine neue Klasse von Phenolfarbstoffen. Dingl. **235**, 232 (1880).

[3]) E. W. Allen und B. Tollens, Über Holzzucker (Xylose) und Holzgummi (Xylan). Lieb. Ann. **260**, 305 (1890) und Diss. Allen, Göttingen 1890.

[4]) K. U. Lefèvre, Diss. Göttingen 1907.

[5]) J. Pieraerts, A propos de la diagnose des pentoses par l'orcine chlorhydrique, Bull., Sér. 4, III. 1157 (1908).

[6]) J. A. Middendorp, Over het oxymethylfurfurol S. 146, Diss. Leiden 1917.

Methylpentosen bringen in viel geringerem Maße eine Farbenänderung hervor und zwar eine mehr grüne, welche bald in braungrün übergeht.

Beide erzeugen charakteristische Absorptionsbanden im Spektrum, wobei die Hexosen nur eine schwach-grünliche Farbe, jedoch kein charakteristisches Band hervorrufen.

Wiewohl bei Anwesenheit einer der beiden Gruppen ein Unterschied in der Farbennüance wahrzunehmen ist, umgekehrt eine Beobachtung der Farbe mit bloßem Auge eine von beiden vermuten läßt, tun wir besser, bei Beobachtung mit bloßem Auge die Reaktion vorläufig beweisend für Pentosen und für Methylpentosen, sowie für die drei genannten Säuren zu betrachten.

Pentosen aber erzeugen zwei Banden im Spektroskop (ein stärkeres und ein schwächeres); Methylpentosen nur ein Band, welches ungefähr mit dem stärksten Pentosenband zusammenfällt (Fig. 2).

Prüfung der Reaktion:

1. 10 mg l-Arabinose, in 2,5 ccm Wasser gelöst, wurden mit 5 ccm Reagens gekocht. Es entstand eine grüne Färbung, welche alsbald in lichtblau überging. Das Amylenhydrat war gleichfalls lichtblau gefärbt.

Im Spektroskop war ein starkes, breites Band, die Li_α-Linie bedeckend (zwischen 5 und 6) und ein schmäleres, schwächeres Band, links von der Sr_α-Linie (6,5) zu beobachten. Nach einigen Stunden war nur noch das stärkere Band auf Li_α wahrzunehmen.

Wird die Flüssigkeit in zu dicker Schicht beobachtet, oder ist sie zu konzentriert, so fallen die Banden zusammen; deshalb soll in diesem Falle so weit verdünnt werden, bis die Banden einzeln sind.

Die Reaktion soll mit höchstens 25 mg Pentose ausgeführt werden.

Tritt durch die Verarbeitung größerer Mengen Pentose, ein blau-grüner Niederschlag auf, so soll die Amylenhydratlösung ja stark verdünnt werden, weil sie sonst kein oder fast kein Licht durchläßt.

2. 10 mg Xylose geben dasselbe Bild. Ist auch hier das Amylenhydrat dunkel gefärbt, so wird fast das ganze Rot verdunkelt; wird zu weit verdünnt, so verschwindet zuerst das

schwache Band bei Sr_α, gerade das für Pentosen charakteristische Band.

Bemerkenswert ist, daß Furfurol nur das schwache Band bei Sr_α als charakteristisches Band zeigt.

3. 10 mg Rhamnose geben schwer eine Färbung, zuerst eine grüne, alsdann eine braungrüne, schließlich eine mehr braune, mit bloßem Auge schon leicht von Pentosenfärbung zu unterscheiden. Sobald die grüne Farbe abschwächt, muß abgekühlt werden. Es trat nur ein Band auf und zwar das Band, welches mit dem stärkeren Pentosenband auf Li_α zusammenfällt. Tritt in einem bestimmten Falle nur das Band auf Li_α auf, so kann das eine Andeutung sein auf die Anwesenheit nur von Methylpentosen; kleinere noch anwesende Mengen Pentosen sind aber nicht ausgeschlossen, weil, wie wir schon erörtert haben, das schwächere Sr_α-Band am schwersten sichtbar zu machen ist.

Treten Li_α und Sr_α-Banden beide auf, so liegen Pentosen vor; in diesem Falle aber können natürlich auch noch Methylpentosen anwesend sein.

4. Wie empfindlich die Reaktion bei reinen Pentosen und Methylpentosen auch ist, so müssen wir doch in Betracht ziehen, daß sich ihre Empfindlichkeit bei Anwesenheit anderer Monosaccharide verringert.

Z.B.: Wurden 10 mg l-Arabinose, mit 50 mg d-Glukose + 50 mg d-Fruktose + 50 mg d-Mannose + 50 mg d-Galaktose gemischt, untersucht, so war das Amylenhydrat nicht lichtblau, sondern grün gefärbt und waren im Spektroskop keine Banden wahrzunehmen.

5. 10 mg l-Arabinose mit 4 × 10 mg der unter 4. genannten Monosaccharide gemischt, riefen in 4 cm dicker Schicht zweifelhaft ein Band hervor.

6. 10 mg l-Arabinose mit 10 mg d-Glukose gemischt, zeigten beide Banden deutlich.

7. Um der Wirklichkeit bei phytochemischer Forschung möglichst nahe zu kommen, wurden 10 mg l-Arabinose in 100 mg farblosem Kartoffelsirup gelöst, wie oben untersucht. Das Amylenhydrat war grün gefärbt und in 2 cm dicker Schicht konnten keine Banden beobachtet werden.

8. 20 mg l-Arabinose in 100 mg Kartoffelsirup gelöst, zeigten im Spektroskop das starke Band auf Li_α deutlich, das schwache bei Sr_α ganz schwach. In 4 cm dicker Schicht war die Erscheinung deutlicher zu sehen.

Wert der Reaktion:

Die Bialsche Probe ist sehr geeignet als Vorprobe, wobei eine kleine Menge Glukosid oder eine andere zuckerabspaltende Substanz (50—100 mg) durch Kochen mit 5%iger Salzsäure hydrolysiert, und die, sei es auch trübe Flüssigkeit wie oben beschrieben, behandelt wird. (Papierfasern sind vorher durch Filtration zu entfernen.)

Wenn wir nun die spektroskopische Reaktion als ein Ganzes überblicken, so erfahren wir, daß sie am besten als eine Pentosenreaktion aufzufassen ist, weniger als eine Methylpentosenreaktion, weil das schwächere Band bei Sr_{α} das einzige ist, welches nur von Pentosen hervorgerufen wird.

Die Reaktion (das Auftreten der Banden) ist sehr empfindlich; bei Anwesenheit noch anderer Saccharide in ungünstigen Verhältnissen verringert sich ihre Empfindlichkeit, bleibt aber noch befriedigend.

Will man aber am sichersten vorgehen, so fasse man die Reaktion als eine allgemeine Reaktion auf Pentosen und Methylpentosen auf, wobei in Betracht gezogen werden soll, daß sie für den Nachweis von Pentosen am meisten gewährleistet.

Bemerkung: Auch die d-Glukuron-, die d-Galakturonsäure und Aldehydschleimsäure verursachen die Bialsche Reaktion.

4. Spektralreaktionen, welche nur von Pentosen (inkl. d-Glukuronsäure, d-Galakturonsäure und Aldehydschleimsäure) gegeben werden.

Phlorogluzinreaktion nach Wheeler und Tollens[1]).

Ausführung:

Einer Saccharidlösung wird soviel Salzsäure (38%) zugegeben, bis der Salzsäuregehalt ungefähr 18% beträgt. Alsdann wird ein wenig Phlorogluzin hinzugefügt und während einiger Minuten oder kürzer im siedenden Wasserbade erhitzt.

Die eventuell entstandene violett-rote Färbung wird mit reinem, furfurolfreiem Amylalkohol (besonders wenn ein Niederschlag entstanden ist) ausgeschüttelt. Die gefärbte Flüssigkeit

---

[1]) H. J. Wheeler und B. Tollens, Über Farbenreaktionen auf Xylose und Arabinose d. h. Pentaglykosen, mittels der Phlorogluzin-Salzsäurereaktion. — Lieb. Ann. **254**, 329 (1889). — Wheeler, Diss. Göttingen 1889. — H. D. Steenbergen, De bepaling der Pentosanen. Ch. W. **15**, 803 (1918) und Pharm. W. **55**, 803 (1918).

wird sofort spektroskopisch untersucht, und nötigenfalls mit Amylalkohol verdünnt, um ein gutes spektroskopisches Bild zu erhalten.

Die Reaktion, welche nur bei Pentosen **ein** Band zwischen Na- und Thalliumlinie hervorruft (ungefähr 7,2 bis ungefähr 8,1), ist für Pentosen charakteristisch (Fig. 2).

Methylpentosen und Hexosen erzeugen das Band nicht.

Falls ein Niederschlag entstanden ist, kann dieser nach der Tollensschen Absatzmethode[1]) auf einem Filter gesammelt und mit Wasser ausgewaschen werden. Nachher wird das Filter samt Niederschlag mit Alkohol übergossen, wobei eine violett-rote Lösung abläuft, welche das Band zwischen D und E, oder besser, zwischen Na- und Tl-Linie erzeugt.

Die Salzsäure soll salpetersäurefrei und überhaupt rein sein.

Pinoff[2]) hat die Reaktion in alkoholischer Lösung ausgeführt und gibt an, daß durch Ätherhinzufügung die rote Farbe und das Band wochenlang bleiben.

Prüfung der Reaktion:

1. 10 mg l-Arabinose, in 5 ccm 18%iger Salzsäure gelöst, gaben, mit etwas Phlorogluzin erhitzt, eine violett-rote Lösung und ein deutliches Band zwischen Na- und Tl-Linie.

2. 10 mg l-Arabinose, mit 5 × 25 mg anderer Monosaccharide (d-Glukose, d-Fruktose, d-Galaktose, d-Mannose und Rhamnose) gemischt, sind nicht mehr nachweisbar.

3. 10 mg l-Arabinose, mit 5 × 10 mg der unter 2. genannten Monosaccharide gemischt, gaben eine rotbraune Farbe und ein Band zwischen Na- und Tl-Linie (was schwer zu sehen war).

Die rotbraune Farbe, welche von den Nichtpentosen verursacht wird, wirkt störend auf die Pentosereaktion ein.

4. 20 mg Rhamnose gaben eine rotbraune Färbung, jedoch kein Band.

5. 10 mg l-Arabinose, mit 100 mg Rhamnose gemischt, gaben eine mehr braunrote Farbe; wurde nun mit Amylalkohol ausgeschüttelt, so zeigte sich dieser mehr braunrot, und bei geeigneter Verdünnung kam das Pentoseband zwischen der Na- und der Tl-Linie deutlich zum Vorschein.

---

[1]) B. Tollens, Über den Nachweis der Pentosen mittels der Phlorogluzin-Salzsäure-Absatzmethode. Ber. **29**, 1202 (1896).

[2]) E. Pinoff, Studien über die Tollenssche Phlorogluzin-Salzsäurereaktion auf Pentosen. Ber. **38**, 766 (1905).

Wert der Reaktion:

Die Reaktion ist für Pentosen sehr empfindlich und charakteristisch. Wenn neben ihr andere Monosaccharide, speziell Hexosen in ungünstigen Verhältnissen vorliegen, verringert sich die Empfindlichkeit, die Reaktion bleibt indessen für Pentosen charakteristisch. Wird kein Band zwischen der Na- und der Tl-Linie erhalten, so darf man noch nicht auf die Abwesenheit von Pentosen schließen.

Die Reaktion bleibt noch sehr empfindlich, auch wenn neben Pentosen Methylpentosen vorliegen in ungünstigen Verhältnissen. Die violettrote Farbe indessen wird beeinflußt und wird mehr rot; das ist aber nicht der charakteristische Teil der Reaktion.

Bemerkung: Auch die Glukuron-, die Galakturon- und die Aldehydschleimsäure geben die Reaktion.

Die Baeyersche Resorzinreaktion[1]) nach Rosenthaler[2])

Diese für Pentosen charakteristische Reaktion ist sehr empfindlich, wenn nach der Destillationsmethode und nötigenfalls nach der „Absatzmethode“ vorgegangen wird.

Ausführung der Reaktion:

„Das Saccharid oder die saccharidhaltige Substanz wird nach der Pentosanbestimmung (siehe den quantitativen Teil dieses Kapitels) destilliert, jedoch mit der Abänderung, daß mit 30 ccm 12%iger Salzsäure destilliert wird, und unter jedesmaliger Hinzugabe von 5 ccm 12%iger Salzsäure, neunmal 5 ccm und das zehnte Mal 10 ccm, abdestilliert wird. Den verschiedenen Destillaten wird ein gleiches Volumen Salzsäure und eine kleine Menge Resorzin hinzugegeben, und die Flüssigkeiten während einiger Minuten im siedenden Wasserbade erhitzt.“

Wenn Pentosen vorliegen, werden grüne bis violettblaue Färbungen und zwei Banden, wovon eins auf 6 liegt, also zwischen Li_α und Sr_α, dessen anderes, schwaches, dünneres auf 7, also auf der Na-Linie liegt, hervorgerufen (Fig. 2).

---

[1]) A. v. Baeyer, Über d. Verbind. d. Aldehyde m. d. Phenolen. Ber. 5, 26 und 280 (1872).

[2]) L. Rosenthaler, Zum Nachweis von Methylpentosen und Pentosen. Anal. Chem. 48, 169 (1909).

Methylpentosen erzeugen lichtrote Färbungen und ein Band auf ungefähr 8,8 bis ungefähr 9,8 auf Ba_α, also zwischen Tl- und Cs-Linie (Fig. 2); dieses Band verschwindet aber nach einigen Minuten Erwärmens, und die Pentosenbanden auf 6 und 7 bleiben bestehen.

Prüfung der Reaktion:

1. 10 mg l-Arabinose wurden mit 30 ccm 12⁰/₀iger HCl wie oben destilliert. Es entstanden beim Erhitzen mit gleichen Teilen 38⁰/₀iger Salzsäure und einer kleinen Menge Resorzin grüne bis violettblaue Färbungen, jedoch keine Banden.

Nach einiger Zeit bildeten sich im Reagenzrohr schwache Trübungen. Wurden diese alle auf demselben Filter gesammelt und mit Wasser ausgewaschen, das Filter mit Eisessig übergossen, und die zu dunkle Flüssigkeit nach genügender Verdünnung mit Eisessig spektroskopisch untersucht, so waren beide Banden auf 6 und 7 gut zu beobachten. Stets wird der rechte Teil des Spektrums verdunkelt, das ist aber nicht charakteristisch.

2. 10 mg Rhamnose gaben, wie oben behandelt, eine lichtorangerote Färbung und ein Band zwischen ungefähr 8,8 bis ungefähr 9,8, also zwischen Tl- und Cs-Linie; jedoch verschwand es nach einigen Minuten Erwärmens.

3. Ein Gemisch aus 10 mg d-Galaktose, 10 mg d-Glukose, 10 mg d-Fruktose und 10 mg d-Mannose erzeugte schwach rosa Färbungen und kein Band. Nur das letzte, zehnte Destillat von 10 ccm gab ein schwaches Band an der Stelle des Methylpentosenbandes, es verschwand aber bei Erwärmung.

4. 10 mg l-Arabinose konnten nach der „Absatzmethode“ noch in einem Gemisch aus 25 mg d-Glukose, 25 mg d-Fruktose, 25 mg d-Mannose, 25 mg d-Galaktose und 25 mg Rhamnose, also mit 150 mg Nicht-Pentose, nachgewiesen werden.

Die schmutzigvioletten Färbungen waren schwach. Das Band auf ungefähr 9 verschwand. Nach etwa einer Stunde waren schwache Trübungen entstanden. Nach Filtration usw. auf einem Filter und Lösung in Eisessig war derselbe dunkel braungrün gefärbt. Die Banden auf 6 und 7 waren verschmolzen in dem Sinne, daß das dunkle Band auf 6 nach und nach in das schwache Band überging. In diesem ungünstigen Verhältnisse waren die 10 mg Arabinose noch nachweisbar.

5. 10 mg l-Arabinose wurden mit 100 mg Rhamnose gemischt, wie oben behandelt. Die mehr oder weniger orange gefärbten Destillate erzeugten nach Hinzugabe von Salzsäure und Resorzin ein Band auf ungefähr 8,8 bis ungefähr 9,8. Nach Erwärmung während einiger Minuten wurden die Flüssigkeiten schwach purpur; die beiden ersten Destillate grünlich. Das Band auf ungefähr 8,8 bis ungefähr 9,8 war verschwunden, die Pentosebanden traten jedoch nicht auf. Nach der „Absatzmethode" wurde eine dunkelbraungrüne Lösung erhalten, welche noch gerade das Band auf 6 zeigte, nicht aber das auf 7.

6. Mit 20 mg l-Arabinose und 100 mg Rhamnose erging es nicht besser. Die Methylpentose wirkt sehr störend.

7. 100 mg Rhamnose gaben ein bald verschwindendes Band auf ungefähr 8,8 bis ungefähr 9,8 und einen lichtbraunen Niederschlag.

Wert der Reaktion:

Die Reaktion ist für Pentosen und für die drei Säuren empfindlich und charakteristisch; die Empfindlichkeit verringert, wenn Methylpentosen in für Pentosen ungünstigen Verhältnissen vorliegen, der Einfluß der Hexosen ist viel geringer.

Die Baeyersche Pyrogallolreaktion (a. a. O.) nach Rosenthaler (a. a. O.)

Ausführung der Reaktion:

Diese geschieht wie bei der Reaktion mit Resorzin beschrieben.

Prüfung der Reaktion:

1. 10 mg l-Arabinose wurden, wie bei Resorzin, destilliert usw. Die Färbungen waren bei Erhitzung violett bis braunviolett. Es zeigte sich ein sehr unscharf begrenztes Band auf ungefähr 9 bis ungefähr 10. Bisweilen ist der ganze rechte Teil des Spektrums verdunkelt; in diesem Falle muß verdünnt werden. Bisweilen reicht das Band von vor 9 bis weit über 10, zwischen Tl- und Cs-Linie (Fig. 2).

2. 10 mg Rhamnose gaben in derselben Weise violettartige bis purpurne Verfärbungen und ein Band auf ungefähr 8,8 bis ungefähr 9,8, also ungefähr dasselbe wie bei Pentosen. Das Band verschwand, wenn auch schwer, bei weiterem Erhitzen.

Wert der Reaktion:

Die Reaktion ist für die Unterscheidung von Pentosen und Methylpentosen wenig geeignet und nicht empfehlenswert.

Reaktion nach Schiff[1])

Ausführung der Reaktion:

Wenn der Flüssigkeit, durch Mischung gleicher Teile Anilin und Eisessig, einige Tropfen furfurolhaltige Flüssigkeit hinzugegeben wird, entsteht eine rote Färbung; Methylfurfurol erzeugt eine gelbe.

Prüfung der Reaktion:

1. 5 mg l-Arabinose wurden, wie bei Resorzin (siehe oben), mit 30 ccm 12%iger Salzsäure destilliert. Mit einigen Tropfen der erhaltenen Destillate wurden schöne Rotfärbungen erhalten, welche, wenn sie nicht zu intensiv sind, ein Band erzeugen, vor 10 bis über 11, also die Sr_δ-Linie bedeckend (Fig. 2).

Das Band ist sehr unscharf begrenzt und bisweilen breiter wie angegeben.

Auch als „Schichtenreaktion" mit mehr Flüssigkeit ist sie eine empfindliche.

2. 10 mg Rhamnose erzeugten gelbe Färbungen und kein Band.

Wert der Reaktion:

Die Reaktion ist sehr empfindlich und charakteristisch für Pentosen. Die Reaktion soll mit kleinen Mengen Saccharid ausgeführt werden.

Orzinreaktion nach A. Neumann[2])

Diese Reaktion ist wenig besprochen worden[3]) und doch ist sie eine gute zu nennen, um Pentosen nachzuweisen. Sei es, daß Neumann sie selber (a. a. O.) weniger richtig interpretiert, überdies nur ein Taschenspektroskop benutzt, und also die Lage der Banden ungenau angibt, ja bei l-Arabinose ein Band nicht er-

---

[1]) H. Schiff, Furfurolreaktionen. Ber. **20**, 540 (1887); Lieb. Ann. **201**, 355 (1880).

[2]) A. Neumann, Neue Farbenreaktionen der Zucker. Ber. Woch. **41**, 1073 (1904).

[3]) F. Sachs, Über den Wert der verschiedenen Farbenreaktionen z. Nachweis der Pentosen. Bio **1**, 383 (1906).

wähnt und Methylpentosen nicht in seine Untersuchung mit hineinbezieht.

Neumann (a. a. O.) erhitzt ein Gemisch von 10 Tr. der Zuckerlösung mit 5 ccm Eisessig (99%) und einigen Tropfen einer 5%igen alkoholischen Orzinlösung zum Sieden; dann gibt er tropfenweise starke Schwefelsäure hinzu, bis eine deutliche Färbung aufgetreten ist, dabei niemals mehr als 50 Tropfen anwendend.

Nach Neumann (a. a. O.) gibt l-Arabinose eine violettrote Färbung und ein Band, rechts von der Na-Linie. Xylose bei gewöhnlicher Temperatur blau, und ein Band im Orange, rechts von C, und das Arabinoseband. Glukose und Fruktose geben dabei braunrote und gelbbraune Färbungen, wobei d-Glukose ein Band gibt, rechts von C im Grün und Fruktose ein Band links von c im Rot und wobei der rechte Teil des Spektrums von d an verdunkelt wird.

Prüfung der Reaktion.

Die Reaktion ist besser als Neumann selber angibt, wenn Sorge dafür getragen wird, daß stets 10 Tropfen Schwefelsäure hinzugegeben werden, nicht mehr, wie mir aus mehreren Versuchen erhellte; hierdurch wird die sekundäre Einwirkung der Schwefelsäure möglichst vermieden[1]).

Wenn diese Vorschrift genau befolgt wird, geben die Hexosen keine Banden, und nur schwachgelbe bis gelbbraune Färbungen. Weiter wurde mir klar, daß Mengen Saccharid von höchstens 50 mg in Reaktion genommen werden dürfen, am besten 20 mg. Mit diesen Änderungen ist die Reaktion empfindlich und für Pentosen charakteristisch. Methylpentosen erzeugen kein Band und nur gelbe Färbungen.

Es stellte sich weiter heraus, daß l-Arabinose und Xylose, wie auch zu erwarten ist, sich gleich verhalten und zwei Banden erzeugen (Fig. 2), der Behauptung Neumanns gegenüber (a. a. O.), Arabinose erzeuge nur ein Band.

Abänderung der Neumannschen Reaktion:

Infolge meiner Versuche kann ich die Neumannsche Reaktion in folgender Fassung empfehlen:

[1]) Schwefelsäure in Eisessig ist ein ausgezeichnetes Reagens, Färbungen hervorzurufen (z. B. Liebermannsche Cholestolprobe), weil ihre Wirkung durch die Abwesenheit von Wasser bedeutend abgeschwächt wird, und Nebenreaktionen in viel geringerem Maße auftreten.

„Etwa 20—30 mg Monosaccharid, in 10 Tr. Wasser gelöst, werden mit 5 ccm 99%igem Eisessig und 5 Tr. einer 5%igen alkoholischen Orzinlösung gemischt, zum Sieden erhitzt. Nach Hinzugabe von 10 Tr. starker Schwefelsäure, wird die gefärbte Lösung in 2 cm und in 4 cm dicker Schicht spektroskopisch beobachtet. Wenn die Flüssigkeit freiwillig abgekühlt ist, wird die Beobachtung wiederholt."

Bei den reinen Monosacchariden erhielt ich folgende Übersicht.

	1 mg	10 mg	50 mg
Arabinose	Schwach blau. In 2 cm Schicht: Band 6,4—7,1. In 4 cm Schicht: Starkes breites Band 6,4—7,1, und ein schmales schwaches auf 5,6—6.	Violett, dann blau, dann violettblau. Banden wie bei 1.	Grünblau, dann blau. Banden wie bei 1 und 10 mg
Xylose	Schwach grünblau. Banden wie bei Arabinose. Hier ist Band 5,6—6 das starke und 6,4—7,1 das schwache Band.	Grünblau, dann blau. Banden wie bei 1.	Grün, dann grünblau. Wie bei 1.
Rhamnose	Lichtgelb. Kein Band (nur Verdunkelung von 9 an nach rechts).	Braungelb. Kein Band.	Gelbbraun. Kein Band.
Glukose	Gelblich, dann sehr schwach grünblau. Kein Band.	Schwach gelb, dann schwach grün. Kein Band.	Braungelb. Kein Band.
Mannose } **Galaktose** }	Wie bei Glukose.	Wie bei Glukose.	Wie bei Glukose.
Fruktose	Braungelb, kein Band.	Orangebraun. Kein Band. Verdunklung von 8 an nach rechts.	Rotbraun. Kein Band.

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, ist die Reaktion für Pentosen charakteristisch. Wenn gegebenenfalls eine reine blaue Farbe auftritt, so ist das als ein Hinweis nur auf Pentosen zu betrachten.

Liegen neben Pentosen Methylpentosen oder Hexosen oder beide vor, so verringert sich die Empfindlichkeit sehr, besonders wenn Fruktose vorliegt; diese kann jedoch leicht zuvor mit Hefe vergoren werden.

Durch die gelben bis braunen Färbungen, welche die anderen Zucker erzeugen, verwandelt sich die blaue Farbe meistens in eine grüne; ist das Verhältnis Pentose-Nichtpentose nicht zu ungünstig, so verändert sich die Farbe nach und nach in braungrün, olivengrün bis blaugrün und treten die Pentosenbanden wieder auf.

Die folgenden Versuche wurden ausgeführt zum Zwecke der Forschung der Empfindlichkeit:

1. 10 mg l-Arabinose + 20 mg Rhamnose. Gelbbraun, kein Band, nur Verdunkelung des Spektrums von 9 an, nach rechts (grün bis Ende Spektrum); nach und nach verwandelt sich die Farbe in braungrün, dann in olivengrün, schließlich in blaugrün, und in 2 cm Schicht tritt das Band 6,4—7 (also Sr_α bedeckend) auf; in 4 cm Schicht ebenso das schwache Band auf 6 (nahe an oder auf Li_α).

2. 10 mg l-Arabinose + 50 mg d-Glukose. Schmutzig, schwach purpur, dann blaugrün, schließlich grünblau. In 4 cm-Schicht tritt zuerst das starke Band bei Sr_α auf, dann das schwache bei Li_α.

3. 10 mg Arabinose + 20 mg Rhamnose + 30 mg fast farbloser Kartoffelsirup. Rotbraune Farbe, welche in olivengrün übergeht, wobei die zwei Banden sehr schwach zu beobachten sind.

4. 5 mg Arabinose + 25 mg d-Glukose. Nicht stark purpurblau, dann blau, das Band 6,4—6,9 ist zu sehen; Band 5,6—6,1 nicht.

5. 5 mg Arabinose + 25 mg Rhamnose. Braungelb; nach Verdünnung mit gleichen Teilen Wasser grün und ein Band auf 6,4—6,9.

Wert der Reaktion:

Wiewohl die Reaktion empfindlich und für Pentosen charakteristisch ist, verringert sich ihr Wert, wenn Methylpentosen und Hexosen in für Pentosen ungünstigen Verhältnissen beigemischt sind. In diesem Falle steht sie anderen Pentosenreaktionen nach.

Zweite Abänderung der Neumannschen Reaktion.

In dem Gedanken, daß die Reaktion auf Abspaltung von Furfurol beruhe, ersetzte ich die Schwefelsäure durch Salzsäure und wurden in folgender Weise etwas bessere Resultate bei Anwesenheit von Methylpentosen und Hexosen erhalten, obwohl die

Reaktion etwas weniger scharf für Pentosen allein wurde; sie blieb immerhin empfindlich. Sie wurde in folgender Weise ausgeführt: „Etwa 20 mg Pentose in 10 Tr. 25%iger Salzsäure gelöst und gemischt mit 5 ccm Eisessig und 5 Tr. einer 5%igen alkoholischen Orzinlösung, wurden während 3 Minuten im siedenden Wasserbade erhitzt."

Beide Banden traten auf.

Prüfung der Empfindlichkeit:

1. 10 mg Arabinose + 50 mg fast farbloser Kartoffelsirup. Eine olivengrüne Färbung trat ein, dann eine reingrüne. Sofort untersucht, war das Band nach rechts von D verschoben. Nach einigen Minuten verschmälerte es sich bis links von D und waren beide Pentosenbanden normal zu beobachten.

2. 10 mg Arabinose + 20 mg Rhamnose + 30 mg Kartoffelsirup. Rotbraun, Banden nicht zu sehen. Viel Verbesserung bringt die Benutzung der Salzsäure also nicht.

Da die Fruktose am meisten störend wirkt, kann es von Wichtigkeit sein, darauf hinzuweisen, daß Neumann (a. a. O.) fand, die gelbbraune Farbe gehe durch Wasser- oder Alkoholhinzufügung in gelbgrün über, welchen Befund ich bestätigen kann.

Nach Neumann (a. a. O.) geht bei der d-Glukuronsäure, welche Pentosenreaktionen gibt und eine grünblaue Färbung erzeugt, diese durch Hinzufügung von Wasser oder Alkohol in rötlich über, während bei Arabinose und bei Xylose keine Farbenänderung auftritt.

Bemerkung: Die Reaktion wird also auch von d-Glukuron- und d-Galakturonsäure gegeben.

5. Spektral-Reaktionen, welche nur von Methylpentosen gegeben werden

Reaktion nach Rosenthaler[1])

Ausführung der Reaktion:

Wird eine Methylpentose mit 10 ccm 38%iger Salzsäure (spez. Gew. ungefähr 1,18) und 1—2 ccm reinem Azeton im sie-

[1]) L. Rosenthaler, Zum Nachweis von Methylpentosen und Pentosen. Anal. Chem. 48, 167 (1909). Siehe über diese Reaktion Middendorp, Diss. Leiden 1917, S. 129, der noch links vom D-Bande ein Band beobachtete, welches bei verdünnten Lösungen sehr schwer zu sehen war. — Bei den hier angegebenen Verhältnissen wurde das Band nicht beobachtet (Verf.).

denden Wasserbade erhitzt, so tritt bald eine violette Färbung auf (nach Rosenthaler himbeerrot), welche im Spektroskop ein Band erzeugt, welches die Na-(D)Linie bedeckt (Fig. 2).

Rosenthaler (a. a. O.) gibt an, die Pentosen geben ebenso diese Färbung, welche jedoch bald verschwinde, so daß nach 10 Minuten Erwärmens die himbeerrote Farbe in eine gelbbraune verwandelt sei, und kein Band auftrete. Ist die violette Farbe zu stark, so läßt R. mit Eisessig verdünnen. Nach 10 Minuten Erwärmens verschwinden violette Farbe und Band bei Methylpentosen. R. konnte in dieser Weise noch 0,15 mg Rhamnose nachweisen, auch noch, wenn sie mit der 10fachen Menge Pentose gemischt war. Nach 3—5 Minuten Erhitzen im siedenden Wasserbade sollen Farbe und Band beobachtet werden.

Besprechung der Reaktion:

Obschon die Reaktion für Methylpentosen sehr empfindlich und charakteristisch ist, verlangt sie bei der gleichzeitigen Anwesenheit anderer Saccharide in für Methylpentosen ungünstigen Mischungsverhältnissen größere Aufmerksamkeit, weil mir bei der Prüfung klar wurde, daß ebenso Pentosen und sogar Hexosen Banden erzeugen, welche zwar an einer anderen Stelle liegen, als die der Methylpentosen, und bald verschwinden; ebenso treten violette Färbungen auf, die zwar verschwinden, aber nicht so bald. Diesen Umständen ist ja Rechnung zu tragen.

Wird jedoch mit der erforderlichen Vorsicht vorgegangen, so ist die Reaktion als eine sichere und charakteristische zu bezeichnen.

Während nämlich Methylpentosen ein Band auf 7—7,5 erzeugen, also eins, das die Na-Linie bedeckt, wie Rosenthaler (a. a. O.) angibt, erzeugen Pentosen ein Band, welches sich dem Methylpentosenband anschließt und von 7,5—8 läuft. Weiter ist noch ein schwaches Band auf 9,5, rechts von der Tl-Linie wahrzunehmen. Dieses ist kaum zu sehen, verschwindet bald, braucht hier also nicht berücksichtigt zu werden.

Wird nun, nach 3—5 Minuten Erwärmens abgekühlt und dann $^1/_2$—1 Stunde ruhig stehen gelassen, so verschwindet das Pentosenband auf 7,5—8, während das Methylpentosenband auf 7 (D-Linie = Na) noch deutlich zu sehen ist, wie Rosenthaler (a. a. O.) schon angab.

Prüfung der Reaktion:

1. 1 mg Rhamnose rief ein schwaches Band auf 7—7,5 (Na-Linie bedeckend) hervor.

2. 25 mg Pentose (Arabinose) gaben ebenso eine violette Farbe und ein Band auf 7,5—8 nach 3 Minuten Erhitzung.

3. 25 mg d-Glukose erzeugten kein Band.

Weil bei der Anwesenheit von Nicht-Methylpentosen zu gleicher Zeit eine lichtbraune Färbung auftritt zufolge der Einwirkung starker Säuren, besonders auf Hexosen, ist es besser nach der Pentosanbestimmung und mit geringeren Mengen vorzugehen (siehe bei Resorzin S. 41).

Kommen jedoch nur Pentosen neben Methylpentosen vor, so ist die Reaktion ganz gut durch einfache Erhitzung mit 38 %iger HCl und Azeton auszuführen. In dieser Weise verfahrend konnten 5 mg Rhamnose neben 25 mg Arabinose gut nachgewiesen werden. Es soll niemals nur die violette Farbe beobachtet werden, jedoch stets nach einem Bande auf 7—7,5 (Na-) gefahndet werden.

Tritt ebenso das Pentosenband auf 7,5—8 nach 3—5 Minuten Erwärmens auf, so wird die Flüssigkeit abkühlen gelassen, und soll von Zeit zu Zeit spektroskopisch beobachtet werden, bis das Pentosenband verschwindet, um dann nur dem Methylpentosenband, welches die Na-Linie bedeckt, also ungefähr 7—7,5, seine Aufmerksamkeit zu widmen.

Die folgenden Versuche wurden noch ausgeführt:

1. 10 mg Rhamnose wurden mit einem Gemisch aus 25 mg Arabinose, 25 mg Xylose, 25 mg d-Glukose, 25 mg d-Mannose, 25 mg d-Fruktose und 25 mg d-Galaktose nach der Pentosanbestimmung mit 30 ccm 12 %iger Salzsäure destilliert und unter den bekannten Bedingungen 7 × 10 ccm abdestilliert, das achte Mal 15 ccm.

Die 10 ccm wurden während 3 Minuten mit 5 ccm 38 %iger Salzsäure und 2 ccm reinem Azeton im siedenden Wasserbade erhitzt; die 15 ccm mit 7 ½ ccm Salzsäure und 2 ccm Azeton. Außer dem ersten Destillat, das nur sehr schwach violett wurde und im Spektroskop kein Band erzeugte, wurden die Destillate violett bis rotviolett, und das Pentosen-, sowie das Methylpentosenband wurden sichtbar. Nach der 3 Minuten-Erwärmung wurde abgekühlt und während einer halben Stunde beiseite gestellt. Alsdann war nur das Methylpentosenband übrig geblieben. Wurde das obengenannte Gemisch der 6 × 25 mg Nicht-Methyl-

pentosen für sich, wie oben angegeben, destilliert, so wurden die Destillate schlecht violett, und war nur im Anfang das Pentosenband auf 7,5—8 und schwach ein Band auf 9,5—10 sichtbar. Nach einigem Stehen verschwanden beide Banden.

Schlußbetrachtung über den Wert der Reaktion:

Der scheinbare Nachteil des Auftretens des Pentosenbandes neben dem Methylpentosenbande macht sich bei genauer Ausführung nicht fühlbar; nach dem Verschwinden desselben bleibt die violette Farbe und das Methylpentosenband auf der Na-Linie. Auch bei ungünstigen Mischungsverhältnissen mit anderen Monosacchariden bleibt sie empfindlich, obwohl sie etwas mehr Aufmerksamkeit erfordert.

Reaktion nach Widtsoe und Tollens[1])

Ausführung der Reaktion nach Widtsoe:

„1—3 g der methylpentosenhaltigen Substanz werden wie bei der Pentosanbestimmung destilliert. Von je 30 ccm Destillat werden 5—10 ccm in einem Reagierrohr erwärmt und nach Zugabe gleicher Teile 38%iger Salzsäure während einiger Minuten im siedenden Wasserbade erhitzt."

Nur bei Methylpentosen ist spektroskopisch ein Band zwischen grün und blau wahrzunehmen.

Prüfung der Reaktion:

Weil 1—3 g für unseren Zweck zu viel Material kosten, wird auch hier mit kleinen Mengen Substanz gearbeitet.

1. 25 mg Rhamnose wurden mit 30 ccm 12%iger Salzsäure nach der bei „Resorzin" auf S. 41 angegebenen Weise destilliert und die erhaltenen 5 ccm Destillate mit 5 ccm 38%iger Salzsäure erhitzt. Es entstanden schwach gelborange Färbungen und dabei war im Spektroskop ein Band im Grün zu sehen, rechts von der Tl-Linie, dort, wo Ba_α zu finden ist, also zwischen Tl- und Cs-Linie, auf ungefähr 9 bis ungefähr 10 (Fig. 2).

2. Ein Gemisch aus 50 mg l-Arabinose, 50 mg Xylose, 50 mg d-Glukose, 50 mg d-Mannose, 50 mg d-Galaktose

[1]) J. A. Widtsoe, Ü. d. Traganthgummi u. d. Methylpentosane. Ber. 33, 146 (1900) und Diss. Göttingen 1899.

und 50 mg d-Fruktose wurde wie oben destilliert und 9mal 5 ccm und das 10te Mal 15 ccm abdestilliert.

Beim Erhitzen mit gleichen Volumteilen 38%iger Salzsäure blieben die Destillate fast farblos und war kein Band zu beobachten.

3. 25 mg Rhamnose mit den bei 2. genannten 6 × 50 mg Monosacchariden gemischt, gaben eine gelbbraune Färbung, aber kein Band.

4. 50 mg Rhamnose mit den 6 × 50 mg der unter 2. genannten Monosacchariden gaben vom dritten Destillate an, das Band zwischen Tl- und Cs-Linie in 2 oder 4 cm Schicht deutlich zu sehen.

5. 10 mg Rhamnose, mit 50 mg Arabinose und 50 mg Xylose gemischt, gaben schwach gelbbraune oder braungelbe Färbungen; die zwischenliegenden und letzten Destillate zeigten ein schwaches Band zwischen Tl- und Cs-Linie.

Wert der Reaktion:

Obschon die Reaktion für Methylpentosen empfindlich ist, verringert sich die Empfindlichkeit sehr, wenn auch Nicht-Methylpentosen in ungünstigen Verhältnissen vorliegen. Die Reaktion bleibt jedoch für Methylpentosen charakteristisch.

Reaktion nach Oshima und Tollens[1])

Ausführung der Reaktion:

Nach O. und T. wird die Widtsoe- und Tollenssche Reaktion (a. a. O.) verschärft, durch Phlorogluzin bei der Reaktion einzuführen.

Pentosen erzeugen alsdann eine grüne Färbung oder Niederschlag; Methylpentosen eine orangegelbe Färbung oder Niederschlag.

Besprechung der Reaktion:

Die Reaktion gewinnt durch das Phlorogluzin bedeutend an Schärfe, hat aber den Nachteil, nicht mehr allein spezifisch für Methylpentosen zu sein, d. h. die orange Färbung wird fast sofort von der grünen, eventuell vorliegender Pentosen verdeckt.

---

[1]) K. Oshima und B. Tollens, Über Spektralreaktionen des Methylfurfurols. Ber. 34, 1425 (1901).

Kommen Methylpentosen allein vor, so bleibt die orange Farbe und ist dafür charakteristisch, ebenso wie die grüne Farbe für Pentosen typisch ist, letztere auch bei Anwesenheit von Methylpentosen.

Die Reaktion wäre also ebenso richtig bei den „Pentosenreaktionen“ abzuhandeln; ich habe mich an die Betitelung Oshimas gehalten, und sie bei den Methylpentosenreaktionen eingereiht.

Prüfung der Reaktion:

1. 5 mg Rhamnose wurden in der bei „Resorzin“ auf S. 41 beschriebenen Weise mit 30 ccm 12%iger Salzsäure destilliert. Schon vom ersten 5 ccm-Destillat an entstand nach Zugabe von 5 ccm 38%iger Salzsäure und Phlorogluzin, eine orangegelbe Färbung; bei sofortiger Beobachtung ist ein Band auf 10—11,5, also ein Band auf Srδ — Csα (Fig. 2) wahrzunehmen. Das Band verschwindet aber bald bei fortschreitender Reaktion, in diesem Sinne, daß jetzt der ganze rechte Teil des Spektrums von Grün an verdunkelt wird. Wird aber die Lösung zu viel verdünnt, so ist das Band als solches nicht mehr vorhanden; das ist auch der Fall, wenn sogar 25 mg Rhamnose, wie oben, destilliert werden.

2. Wurden nun 5 mg Rhamnose mit 25 mg d-Glukose, 25 mg d-Fruktose, 25 mg d-Mannose und 25 mg Galaktose, also mit 4 × 25 mg Hexosen gemischt, wie oben behandelt, so entstanden orangerote Färbungen, doch konnte kein einzelnes Band beobachtet werden; der ganze rechte Teil des Spektrums von Grün an wurde verdunkelt.

3. Werden 25 mg Rhamnose mit den unter 2 genannten 4 × 25 mg Hexosen gemischt usw., so tritt die orangerote Färbung auf und kann ein Band von vor 11 bis vorbei 11, also Srδ und Cs-Linien bedeckend, beobachtet werden, aber ausschließlich unter der Bedingung, daß die Phlorogluzin-Reaktion so langsam verläuft, daß die Farbe langsam entsteht und sich langsam entwickelt. Das kann erreicht werden durch Zugabe nur einer Spur Phlorogluzin. Wenn sofort beobachtet wird, ist das Methylpentosenband sichtbar; das Violett wird stets verdunkelt, dazwischen ist das Blau sichtbar; sehr bald verschwindet auch dies und ist kein einzelnes Band mehr zu sehen.

4. Werden 5 mg Rhamnose mit 10 mg Arabinose, wie oben, destilliert und mit Phlorogluzin behandelt, so wird die orange Farbe bald von der grünen verdeckt. Weil Oshima und Tollens

(a. a. O.) angeben, daß nach einigem Stehen das Furfurolphlorogluzid niederschlägt und nach Filtration eine Flüssigkeit erhalten wird, mit welcher das Methylpentosenband sichtbar gemacht werden kann, so wurde in dieser Weise vorgegangen, es konnte jedoch kein Band wahrgenommen werden.

Wert der Reaktion:

Die Reaktion ist für Pentosen, sowie für Methylpentosen charakteristisch. Pentosen sind neben Methylpentosen gut nachzuweisen, Methylpentosen neben Pentosen nicht, wenigstens nicht in den hier besprochenen Verhältnissen. Die Reaktion ist für Methylpentosen sehr empfindlich und soll mit kleinen Mengen (ungefähr 5 mg) oder mit so viel Substanz, wie mit dieser Menge übereinstimmt, ausgeführt werden, weil sonst kein einzelnes Band zu beobachten ist.

Neben Hexosen ist die Reaktion ziemlich empfindlich, und ist ein Band wahrzunehmen, wenn wenig Phlorogluzin genommen und sofort beobachtet wird.

Weil das Band sich sehr schnell ausbreitet, ist die Reaktion weniger angenehm in der Ausführung und erfordert sie viel Sorgfalt und Aufmerksamkeit.

Reaktion nach Maquenne[1])

Ausführung der Reaktion:

Wenn Methylfurfurol mit Alkohol und starker Schwefelsäure erhitzt wird, entsteht eine grüne Färbung; spektroskopisch ist ein Band zwischen Grün und Blau zu sehen.

Widtsoe (a. a. O.), der diese Reaktion ausführlich untersuchte, erachtet sie ungeeignet, weil nur mit konzentrierten Methylfurfurollösungen gute Resultate erhalten werden, besonders wenn überdies Furfurol zugegen ist. W. beobachtete bei der Reaktion noch andere Farben und ändert die Reaktion ab, indem er 1 Tropfen Methylfurfurol in 5 ccm eines abgekühlten Gemisches aus 3 Teilen 95%igen Alkohols und 1 Teil konzentrierter Schwefelsäure löst und vorsichtig erhitzt; bald tritt nur die grüne Farbe auf. $^1/_{16}$ Tr. Methylfurfurol in 10 ccm Gemisch (1 H_2SO_4 : 4 Alkohol) gelöst, ergab noch eine deutlich grüne Färbung; $^1/_{32}$ Tr. war noch gerade

---

1) Maquenne, Recherches sur le fucusol. C. R. **109**. 571—573 (1889).

nachweisbar. 1/8 Tr. mit 2 Tr. Furfurol gemischt, gab noch gerade eine Grünfärbung.

Wert der Reaktion:

Weil für die Reaktion Methylfurfurol in Substanz erforderlich ist, sei es auch in geringer Menge, so ist sie für unseren Zweck, die Identifizierung auch geringerer Mengen Methylpentosen, nicht als geeignet zu betrachten.

Reaktion nach de Chalmot[1]

Die Reaktion beruht auf der Tatsache, daß das essigsaure Methylfuranilin nicht zersetzt wird, wenn die Lösung während einiger Tage dem Sonnenlichte ausgesetzt wird, im Gegensatz zu Furanilin. Wird der nicht mehr roten Flüssigkeit 1—2 Tr. Salzsäure hinzugegeben, so wird sie bei Anwesenheit von Methylfurfurol wieder rot.

Wert der Reaktion:

Die Reaktion ist für unseren Zweck wenig geeignet und es gibt, wie wir gesehen haben, weit bessere.

Reaktion nach Windaus[2]

Windaus fand, daß nur die Methylpentosen bei der Oxydierung mit Chromsäure-Eisessig Acetaldehyd liefern, Arabinose, Glukose, Galaktose nicht. Im Destillate wird Acetaldehyd mit salzsaurem p-Nitrophenylhydrazin als Hydrazon mit dem Schmelzpunkt 128° abgeschieden.

W. warnt vor der Benutzung von Schwefelsäure-Chromsäure, weil alsdann aus Hexosen Lävulinsäure entsteht, die gleichfalls Acetaldehyd liefert.

6. Naphthoresorzin-Spektralreaktion auf d-Glukuron-, d-Galakturonsäure und Aldehydschleimsäure nach Tollens-Neuberg und Saneyoshi[3])

Eine empfindliche Reaktion auf die d-Glukuronsäuregruppe ist die Tollenssche Naphthoresorzinreaktion[4]), nach welcher gleiche Volumen Glukuronsäurelösung und 38%iger Salzsäure während

---

1) G. de Chalmot, Pentosans in plants. Amer. 15, 276—285 (1893).

2) A. Windaus, Notiz über die Oxydation organischer Verbindungen mit Chromsäure. Z. physiol. Ch. 100, 167—169 (1917).

3) Siehe auch Kap. I, C. S. 19.

4) B. Tollens, Über einen einfachen Nachweis der Glucuronsäure mittels Naphthoresorcin, Salzsäure und Äther. Ber. 41, 1788—1790 (1908).

1 Minute mit 1 ccm 1%iger alkoholischer Naphthoresorzinlösung gekocht werden. Nach der Abkühlung wird mit gleichen Teilen Äther ausgeschüttelt, welcher rotviolett bis blau gefärbt wird und im Spektroskop ein Band auf der Na-Linie gibt. Nach Tollens (a. a. O.) geht die Farbe bei Pentosen und Hexosen nicht in den Äther über.

Neuberg und Saneyoshi[1]) erachten Ausschüttelung mit Äther weniger geeignet, weil die Reaktion alsdann zu wenig spezifisch für die d-Glukuronsäuregruppe ist. Sie benutzen Benzol, welches nur die von der d-Glukuronsäuregruppe stammende Färbung in sich aufnimmt, überdies den Vorteil hat, daß ebenso die Osazone in dieser Weise untersucht werden können.

Sie verfahren dabei wie folgt:

„8 mg Osazon werden bei gewöhnlicher Temperatur in 4 ccm 38%iger Salzsäure gelöst, diese zum Sieden erhitzt, das Naphthoresorzin (100 mg) hinzugefügt und noch ½ Minute erhitzt. Alsdann wird langsam auf 50° abgekühlt und mit Benzol ausgeschüttelt.

Prüfung der Reaktion[2]):

Zum Vergleich wurden alle Monosaccharide und Glukuronsäure nach der Tollensschen Probe mit Äther- sowie mit Chloroformausschüttelungen untersucht und zwar in Mengen von 50 mg.

Bei Arabinose, Xylose und Rhamnose war die Flüssigkeit dunkel purpurblau gefärbt, bei d-Glukose, d-Mannose und d-Galaktose grünblau und bei Fruktose braun.

Die Flüssigkeiten wurden mit Chloroform ausgeschüttelt und diese spektroskopisch untersucht. Das Chloroform war bei Arabinose und Xylose licht violettblau und in 4 cm Schicht war ein Band auf 6,7—7,7, also auf der Na-Linie zu sehen. Bei Rhamnose rotviolett, in 2 cm Schicht außer anderen Banden kein Band auf D; in 4 cm Schicht ein Band auf D (7). Bei d-Glukose und bei d-Mannose grünblau; in 4 cm Schicht außer anderen Banden ein Band auf 7 (bei d-Mannose undeutlich). Bei d-Galaktose lichtgrün; kein Band in 4 cm Schicht. Bei d-Glukuronsäure sehr schön violett und ein Band auf D (Fig. 2).

Mit Ätherausschüttelung dasselbe Resultat.

---

[1]) C. Neuberg und S. Saneyoshi, Über den Nachweis kleiner Mengen Glucuronsäure als Osazon. Bio. **36**, 56—59 (1911).

[2]) A. W. van der Haar, Bio. **88**, 209 (1918).

Schlußfolgerung:

Kommt d-Glukuronsäure allein vor, so ist die schön violette Farbe (wie verdünnte Permanganat) charakteristisch und ist Chloroform oder Äther geeignet.

Kommen jedoch neben d-Glukuronsäure Monosaccharide vor, so sind Chloroform und Äther ganz unzuverlässig.

Gute Resultate werden erhalten, wenn man nach N. und S. (a. a. O.) mit Benzol verfährt, wie aus folgenden Versuchen erhellt:

Bei Arabinose. Blauer Niederschlag, Benzol farblos, kein Band.
Bei Xylose. Lichtblauer Niederschlag, desgl.
Bei Rhamnose. Violett, desgl.
Bei Glukose. Blau, desgl.
Bei Fruktose. Rotbraun, Benzol braugelb, kein Band.
Bei Mannose und Galaktose. Blau, Benzol farblos, kein Band.
Bei Glukuronsäure. Benzol rotviolett und ein Band auf Na (7).

Schlußfolge:

Die Naphthoresorzinreaktion nach Tollens mit der Benzolausschüttelung nach Neuberg und Saneyoshi ist eine empfindliche und spezifische Reaktion auf d-Glukuronsäure und andere Aldehyd- und Ketonsäuren[1]).

Sie wird also wie folgt ausgeführt:

„Ungefähr 10 mg d-Glukuronsäure oder gleichviel Osazon in 4 ccm 38%iger Salzsäure gelöst, werden nach Verdünnung mit 4 ccm Wasser aufgekocht. Nach Hinzugabe von 100 mg Naphthoresorzin wird noch eine halbe Minute gekocht, langsam auf 50° abgekühlt und mit gleichem Volumen Benzol ausgeschüttelt. Violette Lösung und Band auf D (7).

In dieser Weise konnte ich in 50 mg farbloser Glyzyrrhizinsäure nach einigen Minuten Erhitzens mit etwa 14%iger Natronlauge, Abkühlung, Neutralisation mit Salzsäure, Hinzufügung eines gleichen Volumens 38%iger Salzsäure und 100 mg Naphthoresorzin, 1 Minute kochen, Abkühlung auf 50°, Ausschüttelung mit 10 ccm Benzol, d-Glukuronsäure wie bekannt nachweisen. Das Benzol war schön violett gefärbt und zeigte ein deutliches Band auf der Na-Linie (7—7,5). Wir werden bei dem „Untersuchungsgang eines Glukosids“ erfahren, wie wir diese ausgezeichnete Reaktion als „Vorprobe“ benutzen können, uns von der An- oder Abwesenheit

---

[1]) J. A. Mandel und C. Neuberg, Bio 13, 148.

von d-Glukuron- und d-Galakturonsäure in Saccharidgemischen, Glukosiden und dergleichen zu überzeugen, d. h. vorläufig wahrscheinlich zu machen.

b) Die Bertrandsche Reaktion auf Xylose

Eine für die Xylose sehr charakteristische Reaktion Bertrands[1]), welche auf der Bildung von wetzsteinförmigen (bootförmigen) Kristallen der Doppelverbindung Xylonsaures Cadmium-Bromcadmium beruht.

Die ursprüngliche Bertrandsche Vorschrift ist von Widtsoe und Tollens[2]) etwas abgeändert, so daß die Reaktion nach Bertrand jetzt wie folgt ausgeführt wird:

200 mg Xylose oder auf Xylose zu untersuchendes Gemisch werden im Reagenzrohr in 1 ccm Wasser gelöst, mit 500 mg Cadmiumkarbonat gemischt und mit 7—8 Tropfen Brom schwach erwärmt. Nach 8—12 Stunden Stehens wird fast zur Trockenheit verdampft, der Rückstand in 4—5 ccm Wasser aufgenommen, filtriert, das Filtrat auf etwa 1 ccm eingedampft und mit 1 ccm absolutem Alkohol gemischt. Nach einiger Zeit wird die ausgeschiedene Verbindung mikroskopisch untersucht (siehe später).

Besprechung und Prüfung der Reaktion:

Obschon die Reaktion für Xylose sehr charakteristisch ist, müssen wir in Betracht ziehen, daß nur die wetzstein- (bootförmigen) Kristalle (Fig. 3) Identifikationswert besitzen. Hier und dort wird in Handbüchern usw. angegeben, daß auch nadelförmige Kristalle entstehen können. Das ist richtig, aber hieraus würde ohne weiteres folgen können, daß diese nadelförmigen Kristalle nur für Xylose charakteristisch sind. Das würde nicht richtig sein, denn auch andere Monosaccharide erzeugen nadelförmige Kristalle, jedoch niemals die bootförmigen.

Rhamnose gibt federförmige Kristalle, welche meistens kreuzweise verwachsen sind.

d-Galaktose gibt Nädelchen, auch breitere.

d-Mannose gibt wenig Nädelchen.

d-Glukose und l-Arabinose wie d-Mannose.

[1]) G. Bertrand, Recherches sur quelques dérivés du Xylose. Bull. Sér. 3, 5, 546 (1891) und Sér. 3, 5, 554.

[2]) J. A. Widtsoe und B. Tollens, Über Arabinose, Xylose und Fukose aus Traganth. Ber. 33, 132—143 (1900) und Diss. Widtsoe. Göttingen 1899.

d-Fruktose gibt lange Nädelchen. Auch können amorphe Niederschläge gebildet werden.

Nadelförmige Kristalle sind also für Xylose nicht ausschlaggebend.

Kommen bei Xylose nadelförmige Kristalle vor, so muß so oft umkristallisiert werden, bis die bootförmigen auftreten (Fig. 3).

Das Auftreten der für Xylose charakteristischen Kristalle wird verzögert, wenn auch andere Monosaccharide vorliegen. Wenn dieses Verhältnis für Xylose sehr ungünstig ist, so kann die

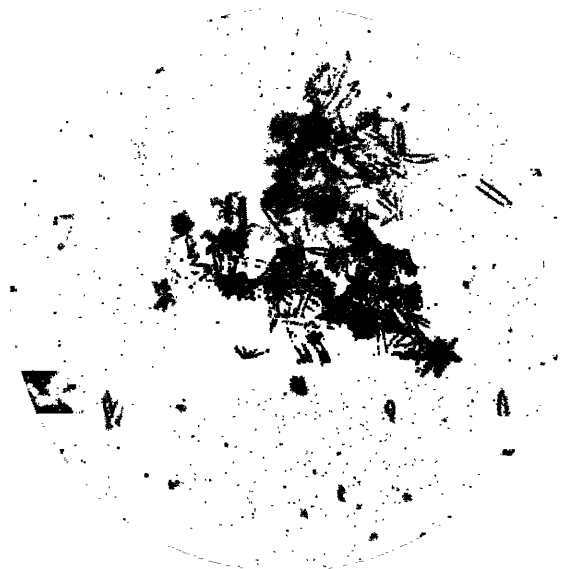



Fig. 3

Kristallisation gänzlich ausbleiben. Indessen ist die Reaktion empfindlich genug.

Wird ein Gemisch aus 50 mg Xylose, 50 mg d-Glukose, 50 mg d-Fruktose, 50 mg d-Mannose, 50 mg d-Galaktose, 50 mg l-Arabinose und 50 mg Rhamnose, wie oben angegeben, behandelt, so gelingt es nicht unter diesen ungünstigen Umständen, die bootförmigen Kristalle hervorzubringen.

Werden nun 50 mg Xylose mit 6 × 25 mg obengenannter Monosaccharide wie oben behandelt, so entstehen in einer Nacht nadelförmige Kristalle. Wurden diese auf einem Saugfilterchen gesammelt,

in 1 ccm Wasser gelöst und 1 ccm 95%iger Alkohol zugegeben, so kristallisierten nach einiger Zeit bootförmige Kristalle aus.

Mit 25 mg Xylose und 6 × 25 mg der genannten Saccharide entstanden wenig nadelförmige Kristalle, welche nach Absaugen, Wiederlösen in Wasser und Behandeln mit gleichem Volumen Alkohol in einer Nacht sich als sehr kleine bootförmige Kristalle ausschieden. Wurden nun die in Wasser gelösten Kristalle zur Trockenheit eingedampft und auf einem Uhrglase in 1 Tropfen Wasser gelöst und mit einigen Tropfen 95%igem Alkohol gemischt, so kristallisierten in einem Tage etwas größere bootförmige Kristalle aus.

Wert der Reaktion:

Sie ist für die Xylose sehr charakteristisch und empfindlich. In ungünstigen Mischverhältnissen ist sie empfindlich genug, da 25 mg Xylose auf 150 mg anderer Monosen gut nachweisbar sind, wenn auch mit Aufwand großer Mühe. Tritt also bei einer Probe von 200 mg eines unbekannten Saccharidgemisches die Reaktion positiv auf, so ist mindestens ungefähr 30 mg Xylose zugegen.

Es kommt vor, daß für die erste Kristallisierung des Doppelsalzes gleiche Teile absoluten Alkohols nicht genügen, sondern nach und nach mehrere Teile zugegeben werden müssen.

c) Zuckersäure-Reaktion auf d-Glukuronsäure

d-Glukuronsäure wird von Salpetersäure zu Zuckersäure oxydiert und hat diese Reaktion also mit d-Glukose gemein.

Bezüglich dieser Reaktion wird auf Kapitel IV verwiesen.

d) Schleimsäurereaktion auf d-Galakturonsäure und Aldehydschleimsäure

d-Galakturonsäure wird von Salpetersäure zu Schleimsäure oxydiert und hat diese Reaktion mit d-Galaktose gemein.

Betreffs dieser Reaktion wird auf Kapitel IV verwiesen.

B. Quantitativer Teil.

(Bestimmung der Pentosen, Methylpentosen, d-Glukuron- und d-Galakturonsäure.)

a) Bestimmung, wenn nur Pentosen vorliegen.

I. Allgemeine Übersicht der Methoden.

Diese sogenannten „Pentosanbestimmungen“ nehmen einen eigenartigen Platz unter den quantitativen Bestimmungen ein. Da sie auf der Mengenbestimmung des aus Pentosen und Pentosen erzeugenden Substanzen mittels Kochens mit verdünnter Salzsäure entstehenden Furfurols fußen und das entstehende Furfurol während der Destillation sich zum Teil wieder zersetzt (dessen Zersetzungsgrad wir nicht genau zu bestimmen imstande sind), kann es nicht wundernehmen, daß von absolut quantitativen Bestimmungen im gewöhnlichen Sinne keine Rede sein kann, so daß man bald überein gekommen ist, die ganze Bestimmung konventionell auszuführen, unter Zuhilfenahme empirisch erhaltener Tabellen. Wenn ein Jeder sich genau an die Vorschrift hält, werden immer unter sich vergleichbare Daten, welche zu gleicher Zeit die gesuchten Mengen wiedergeben, erhalten.

Zwecks Bestimmung des entstandenen Furfurols sind gewichtsanalytische, titrimetrische und kolorimetrische Methoden bekannt geworden. Erst seit dem Jahre 1897 hat man den Methylpentosanen Rechnung getragen, also den Methylpentosen, welche sich in mancher Hinsicht den Pentosen analog verhalten. Die Methoden beruhen auf der Bildung einer Verbindung des entstandenen Furfurols mit verschiedenen Phenolen, Phenylhydrazinen, oder anderen dafür geeigneten Substanzen.

Nachdem Stone und Tollens[1]) gefunden hatten, daß Pentosen bei der Destillation mit verdünnter Salzsäure Furfurol liefern und dieses mittels Ammoniak als Furfurolamid bestimmten, wiesen Günther und Tollens[2]) nach, daß diese Methode zu niedrige Werte gibt; sie titrierten nun das überdestillierte Furfurol mit Phenylhydrazin und Anilinazetat als Indikator.

de Chalmot und Tollens[3]) lieferten eine bessere Methode, indem sie das Furfurol als Phenylhydrazon zur Wägung brachten; die Mengen Furfurol und Pentose wurden daraus berechnet.

Stone[4]) ging wieder zur Titration des Furfurols mit Phenylhydrazin unter bestimmten Bedingungen über und benutzte Fehlingsche Lösung, um das Übermaß an Phenylhydrazin zu zeigen.

---

[1]) W. E. Stone und B. Tollens, Arabinose liefert keine Lävulinsäure, aber beträchtliche Mengen Furfurol. 3. Teil der Abhandlung Ber. **21**, 2150 (1888).

[2]) A. Günther und B. Tollens, Über quantitative Bestimmung von Furfurol und Pentaglucosen. Ber. **23**, 1751 (1890).

[3]) G. de Chalmot und B. Tollens, Über die quantitative Bestimmung von Pentaglucosen in Vegetabilien. Ber. **24**, 694 (1891).

[4]) W. E. Stone, Über die quantitative Bestimmung von Pentosen in Vegetabilien. Ber. **24**, 3019 (1891).

Flint und Tollens[1]) verbesserten die gewichtsanalytische Hydrazonmethode Chalmot und Tollens (a. a. O.); die Destillate wurden mit Natriumkarbonat neutralisiert, mit Essigsäure angesäuert und eine bestimmte Menge Chlornatrium hinzugegeben, worauf mit essigsaurem Phenylhydrazin niedergeschlagen wurde. Das Furfurolphenylhydrazon wurde gesammelt, ausgewaschen und bei 50°—60° im Vakuum getrocknet.

Weiter gab E. Hotter[2]) eine Methode, Furfurol mittels Pyrogallol unter bestimmten Bedingungen niederzuschlagen, dabei die Baeyersche Reaktion[3]) benutzend, nach welcher Furfurol mit Resorzin oder Pyrogallol gemischt, beim Befeuchten mit Salzsäure eine schön indigoblaue Substanz gibt, welche sich mit grüner Farbe in Wasser löst und von Salzsäure blau ausgefällt wird.

Nachdem Councler[4]) zum ersten Male Phlorogluzin empfahl, um Furfurol niederzuschlagen, haben Welbel und Zeisel[5]) und danach u. a. besonders Krüger und Tollens[6]) diese Methode weiter ausgearbeitet, dabei nach Flint und Tollens (a. a. O.) destillierend, wobei sie jedoch das Furfurol im Destillate mit Phlorogluzin niederschlagen, den Niederschlag mit 150 ccm Wasser abwaschen und während 3—4 Stunden, später 4 Stunden im Trockenschrank trocknen.

Behufs dieser Methode hat E. Kröber[7]) eine empirische Tabelle ausgearbeitet, um aus dem in genau beschriebener Weise erhaltenen Phlorogluzid Pentosen und Pentosane im allgemeinen, Arabinose und Xylose im besonderen aufzufinden.

Cross und Bevan[8]) haben den Vorschlag gemacht, das Furfurol bei 70° mit überschüssigem Phlorogluzin niederzuschlagen und Übermaß an Phlorogluzin mittels einer Formaldehydlösung bekannter Stärke zurückzutitrieren. Als Indikator diente Zeitungspapier, das wegen seines Ligningehaltes ein Reagens auf Phlorogluzin ist (Tüpfelprobe).

Böddener[9]) erachtete den Indikator nicht empfindlich genug und erhielt keine brauchbaren Ergebnisse. Er versuchte die Krüger-Tollenssche Methode dadurch zu beschleunigen, daß er das überdestillierte Furfurol mit Phlorogluzin erwärmte und da-

---

[1]) E. R. Flint und B. Tollens, Über die Bestimmung von Pentosanen und Pentosen in Vegetabilien durch Destillation mit Salzsäure und gewichtsanal. Bestimmung des entstandenen Furfurols. Ber. **25**, 2912 (1892).

[2]) E. Hotter, Eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung der in den Vegetabilien vorkommenden Pentosanen. Chem. Ztg. **17**, 1743 (1893).

[3]) A. von Baeyer, Über die Verbindungen der Aldehyde mit den Phenolen. Ber. **5**, 26 und 280 (1872).

[4]) C. Councler, Ein neues Verfahren zur quantitativen Bestimmung von Furfurol bezw. den in den Vegetabilien enthaltenden Pentosanen. Chem. Ztg. **18**, 966 (1894).

[5]) B. Welbel und S. Zeisel, Über die Kondensation von Furfurol und Phlorogluzin und eine auf diese gegründete Methode der quantitativen Bestimmung des Furfurols aus Pentosen und Pentosanen. M. **16**, 283 (1895).

[6]) M. Krüger und B. Tollens, Über die Pentosen und Pentosane und ihre Bestimmung durch Furfuroldestillation. Z. Rüb. **33**. 21 (1896). Angew. Ch. S. 40 (1896) und Krüger, Diss. Rostock 1895.

[7]) E. Kröber, Untersuchungen über die Pentosanbestimmung mittels der Salzsäure-Phlorogluzinmethode nebst einigen Anwendungen. J. Landw. **48**, 357 (1900). Tabelle auf S. 397 ff.

[8]) C. F. Cross, E. J. Bevan und J. F. Briggs, Lignon-Phloroglucidbildung des Holzschliffs. Chem. Ztg. **31**, 725—727 (1907).

[9]) K. Böddener, Untersuchungen über Tetrose usw. Diss. Göttingen 1910.

durch eher filtrieren konnte, d. h. schon nach 1,5 Stunde. Da die Krüger-Tollenssche Verbindung aus 1 Mol. Furfurol und 1 Mol. Phlorogluzin unter Austritt eines Moleküls Wasser entstanden ist, treten bei der Böddenerschen Verbindung 3 Moleküle Wasser aus. Praktisch wären nun wieder neue Tabellen dafür auszuarbeiten, welche jedoch nicht gegeben wurden. Deshalb ist die Böddenersche Methode nicht in Anwendung gekommen.

Kerp und Unger[1]) haben eine Methode ausgearbeitet, das überdestillierte Furfurol als eine Verbindung mit Semioxamazid zu bestimmen.

Jäger und Unger[2]) schlagen das überdestillierte Furfurol mit Barbitursäure nieder.

A. Jolles[3]) titriert das überdestillierte Furfurol mit Kaliumbisulfit und titriert das überschüssige Bisulfit mit Jod zurück.

Flohil[4]) gibt eine Methode mit Hilfe der Kupferreduktionsmethode.

F. Schaffer[5]) gibt schließlich eine kolorimetrische Methode zur Bestimmung von Pentosen und Methylpentosen in Wein.

Von all diesen Bestimmungsmethoden ist eigentlich nur eine allgemein in Anwendung gekommen, nämlich die gewichtsanalytische mit Phlorogluzin in der Weise, wie sie von Krüger und Tollens (a. a. O.) ausgearbeitet ist unter Zuhilfenahme der Kröberschen Tabelle (a. a. O.).

Die Methode ist international geworden und weil sie eine konventionelle ist, darf von der Methode nicht abgewichen werden. Zu bedauern ist es denn auch, daß letzteres hier und dort, sogar in mehr oder weniger offiziellen Codices, der Fall gewesen ist, da natürlich dann ungenaue Ergebnisse erhalten werden, weil bequemlichkeitshalber doch die Kröberschen Tabellen benutzt wurden.

Van Haarst und Olivier[6]) haben schon darauf hingewiesen und dargetan, daß Abweichungen, wie der Niederländische Codex alimentarius sich erlaubt, zu ungenauen Ergebnissen führen.

2. Die Krüger-Tollens-Kröbersche Phlorogluzinmethode[7]).

Ausführung:

2—5 g Substanz (oder entsprechend weniger, besonders wenn Fukose vorliegt) werden mit 100 ccm 12%iger Salzsäure (spez.

---

[1]) W. Kerp und K. Unger, Über das Semioxamazid. Ber. 585 (1897). Siehe auch H. Meyer. Analyse und Konstitutionsermittlung organischer Verbindungen. 1916, S. 735.

[2]) R. Jäger und E. Unger, Über Pentosanbestimmung. Ber. **35**, 4440 (1902); **36**, 1222 (1903). Siehe auch Meyer, 1916, S. 735.

[3]) A. Jolles, Über eine titrim. Methode zur quantitativen Bestimmung der Pentosen. Ber. **39**, 96 (1906).

[4]) J. Th. Flohil, Eene nieuwe Pentosaanbepaling met behulp der koperreductiemeth. Ch. W. **7**, 1057—1063 (1910).

[5]) F. Schaffer, Kolorimetrische Bestimmung der Pentosen und Methylpentosen in Wein. Mitth. Lrb. V, 161 (1914) und VI, 1 (1915). Siehe auch Chem. Ztg. **39**. 564 (1915).

[6]) J. van Haarst en S. C. J. Olivier, Over de bepaling van Pentosanen. Ch. W **11**. 918 (1914).

[7]) Siehe auch die Studie von H. D. Steenbergen in Ch. W. **15**, 784—808 (1918) und Pharm. W. **55**, 782—808 (1918).

Gew. 1,06) in einem 200—300 ccm fassenden Rundkolben, der mit einem doppelt durchbohrten Kautschukstopfen versehen ist und durch dessen eine Öffnung ein Scheidetrichter, durch dessen andere das mit einem Kautschukstopfen in den Liebigschen Kühler reichende Destillierrohr geht, in einem Bade von Rose's Metall (Bi 50, Pb 30, Sn 12) erhitzt, bis in 10 Minuten 30 ccm überdestilliert sind. Alsdann wird durch den Scheidetrichter 30 ccm Salzsäure 1,06 in den Kolben gegeben und wiederum 30 ccm in 10 Minuten abdestilliert. Das wird so oft wiederholt, bis im ganzen etwa 400 ccm Destillat erhalten sind und kein Furfurol mehr überdestilliert (Anilinazetatpapier: für Methylpentosen weniger geeignet). Danach wird dem gesammelten Destillate so viel reines Phlorogluzin, in Salzsäure 1,06 gelöst, zugegeben, als mit dem doppelten Gewichte des zu erwartenden Furfurols übereinstimmt, und gut gemischt. Nach einigen Stunden wird auf Anilinazetatpapier nach der Tüpfelmethode untersucht, ob alles Furfurol gebunden ist. Ist das nicht der Fall, so wird noch etwas Phlorogluzin, in Salzsäure 1,06 gelöst, zugegeben, bis alles Furfurol nach einigen weiteren Stunden gebunden ist. Dann wird mit Salzsäure 1,06 auf 400 ccm aufgefüllt. Am nächsten Tage wird durch ein mit verdünnter Salzsäure, dann mit Wasser ausgewaschenes, getrocknetes und geglühtes Goochsches Asbestfilter unter schwachem Saugen mit der Wasserstrahlpumpe filtriert; der Niederschlag mit 150 ccm Wasser gewaschen in der Weise, daß das zuletzt abfließende Wasser neutral reagiert, worauf der Tiegel nebst Inhalt während 4 Stunden im Wassertrockenschrank bei ungefähr 98° getrocknet, in einem Filterwägefläschchen im Exsikkator abgekühlt und dann gewogen wird. Nach Abzug des Gewichtes des Tiegels mit Asbest wird das Gewicht des Furfurolphlorogluzids erhalten. Aus der gefundenen Menge Phlorogluzid wird aus der Kröberschen Tabelle (siehe am Ende dieses Kapitels) die Menge Pentose oder Arabinose und Xylose gefunden.

Besprechung der Methode:

1. Die Probeentnahme von 2—5 g basiert sich auf Substanzen, welche zum kleineren Teile aus Pentosen oder Pentosanen bestehen. Werden jedoch mehr als 300 mg (Ende der Tabelle) Phlorogluzid erhalten, so soll die Bestimmung mit entsprechend kleineren Mengen ausgeführt werden.

Haben wir es also mit einer Pentose oder mit einem Gemisch, welches zum größten Teile aus Pentosen oder Methylpentosen besteht, zu tun, so genügen Mengen von 100—200 mg.

2. Krüger und Tollens (a. a. O.) destillieren 30 ccm Flüssigkeit in 10 Minuten. Es ist ein sehr wichtiger Faktor, hiervon nicht abzuweichen (siehe auch v. Haarst und Olivier a. a. O.). Auch auf die konstante Destillationsgeschwindigkeit kommt es an.

3. Während der Destillation soll für gute Kühlung Sorge getragen werden.

4. Am besten wird so vorgegangen, daß das in Salzsäure gelöste Phlorogluzin zugegeben wird, wenn das Destillat etwa 300 ccm beträgt, und dann weiter destilliert, bis 400 ccm Destillat erhalten sind.

5. Obschon Krüger und Tollens (a. a. O.) angeben, daß das Phlorogluzin nicht „diresorzinfrei" zu sein braucht, wurde letzeres stets von mir benutzt.

6. Jäger und Unger (a. a. O.) geben an, es gelänge bei der Destillation nach Kr. und T. nur selten, alles Furfurol im 400 ccm-Destillat zu erhalten. Nach ihnen war das der Fall, wenn zu 500—600 ccm destilliert wurde. Bei den vielen Bestimmungen, welche ich ausführte, kam es nur einmal vor, daß Spuren Furfurol in dem über 400 ccm Destillat übergingen.

Wenn dies also der Fall sein möchte, so ist die Bestimmung noch einmal auszuführen.

Es kommt jedoch mal vor, daß nach dem 400 ccm-Destillat, das weiter erhaltene mit Phlorogluzin eine schwache Färbung gibt, aber keinen Niederschlag. In diesem Falle ist die Bestimmung vollkommen brauchbar.

7. Die Untersuchung mit Anilinazetatpapier, um zu sehen, ob alles Furfurol gebunden ist, geschieht am besten indem man 1 Tropfen der klaren Flüssigkeit auf Anilinazetatpapier bringt und sieht, ob Rotfärbung eintritt. Weil die gelbe Farbe, welche mit Methylpentosen auftritt, nicht empfindlich genug ist, ist Anilinazetatpapier hier nicht geeignet und ist von einer Lösung aus Phlorogluzin in Salzsäure zu ersetzen.

Wenn nur Monosaccharide vorliegen und gleiche Teile Phlorogluzin genommen werden, so ist man sicher, daß alles Furfurol gebunden wird.

8. Kr., der früher ein Papierfilter vorschrieb und mit Recht später ein Goochsches Asbestfilter, läßt das Phlorogluzid in der

Weise auswaschen, daß stets nicht mehr Wasser aufgegossen wird, als erforderlich ist, um es ganz damit zu decken. So wird weiter verfahren, bis die 150 ccm Wasser verbraucht sind. Es muß aber dafür Sorge getragen werden, daß infolge zu schnellen Saugens keine Risse im Phlorogluzid entstehen.

Es muß dafür gesorgt werden, daß das letzte Waschwasser chloridfrei ist. Sollte dies wider Erwarten nicht der Fall sein, so ist es ratsam, mit noch kleinen Mengen Wasser zu übergießen.

9. Weil das getrocknete Phlorogluzid außerordentlich hygroskopisch ist, so ist für die Abkühlung des Filterwägefläschchens samt Inhalt ein Exsikkator mit frischer, starker Schwefelsäure zu wählen. Die während einiger Zeit benutzte Schwefelsäure gibt Spuren Feuchtigkeit an das Phlorogluzid ab. Ein Exsikkator mit Phosphorpentoxyd wäre wünschenswert.

10. Wenn Pentosen in Substanzen, wie Saponinen, welche sehr stark schäumen, bestimmt werden müssen, ist der Inhalt des vorgeschriebenen Kolbens viel zu klein, weil die Flüssigkeit bald größtenteils überschäumt.

Dem kann in folgender Weise vorgebeugt werden:

Es wird in einen 250—300 ccm-Kolben nicht mehr als $^1/_2$ g Substanz gebracht und mit 100 ccm der Salzsäure im Wasserbade unter Benutzung eines senkrechten Kühlers völlig hydrolysiert. Erst dann wird destilliert wie angegeben. Das Schäumen findet dann nicht statt und an der Handhabung der Methode ist nichts wesentlich geändert worden.

11. Mit verschiedenen Mengen l-Arabinose wurde die Kröbersche Tabelle kontrolliert und richtig befunden.

12. Wenn Arabinose und Xylose nebeneinander in unbekannten Verhältnissen vorkommen, so sind aus der Kröberschen Tabelle natürlich beide Mengen nicht aufzufinden. Wir müssen dann den Mittelwert wählen, wenn es nicht möglich sein sollte, in irgend anderer Weise eine oder beide zu bestimmen (siehe Kap. V).

Beim Studium der Glukosidenmonosaccharide wird die Sachlage etwas bequemer, weil wir es hier mit molaren Verhältnissen, also 1 : 1, 1 : 2 usw. zu tun haben.

b) Bestimmung, wenn nur Methylpentosen vorliegen

Ebenso wie bei der Destillation nach Kr.-T. (a. a. O.) Pentosen Furfurol abspalten, liefern Methylpentosen das Methylfurfurol.

Dieses Methylfurfurol wird genau in derselben Weise wie das Furfurol bestimmt und als Methylfurfurolphlorogluzid zur Wägung gebracht.

Weil hier die Kröbersche Tabelle natürlich keine Verwendung finden kann, ist von Ellett[1]) für Rhamnose und von Mayer[2]) für Fukose eine Tabelle aufgestellt (siehe am Ende dieses Kapitels).

Für andere Methylpentosen, wie Rhodeose, Chinovose sind noch keine Tabellen angefertigt; sie werden also annähernd genau vorläufig aus der Rhamnose-Tabelle zu entnehmen sein.

Der Ellettschen Tabelle liegt folgende Vergleichung zugrunde:

Rhamnose = Phl. × 1,6467 — (Phl.)^2 × 1,842 + 0,009673 in g.

Und der Mayerschen:

Fukose = 2,66 × Phl. — 0,012 Phl.^{2} + 0,6 (in mg). (Phl. = gewogene Menge Phlorogluzid).

Die Ellettsche Tabelle ist von mir mit verschiedenen Mengen Rhamnose kontrolliert und richtig befunden worden. Sie fußt auf der Formel des Rhamnosehydrats $C_6H_{14}O_6$.

Das Methylfurfurolphlorogluzid ist orange gefärbt.

c) Bestimmung, wenn Pentosen + Methylpentosen vorliegen

Wir erhalten also ein Gemisch der beiden Phlorogluzide, wenn wir nach der Pentosanbestimmung verfahren.

Für dieses Gemisch ist weder die Kröbersche oder die Ellettsche, noch die Mayersche Tabelle geltend.

Es ist also wünschenswert, die beiden Phlorogluzide zu trennen.

Welbel und Zeisel (a. a. O.) haben schon darauf hingewiesen, daß Furfurolphlorogluzid fast unlöslich in Alkohol ist, indem Votoček[3]) die leichte Löslichkeit des Methylfurfurolphlorogluzids in Alkohol nachwies.

Nach diesen beiden Daten hat Ellett (a. a. O.) eine Trennungsmethode gegründet, bei welcher er in folgender Weise zu Werke ging:

---

[1]) W. B. Ellett und B. Tollens. Über die Bestimmung der Methylpentosen und der Pentosanen. Z. Rüb. **42**, 19 (1905) und Ellett, Diss. Göttingen 1904.

[2]) W. Mayer, Diss. Göttingen 1907. W. Mayer und B. Tollens. Über die Fukose und die Bestimmung der Methylpentosane in Naturprodukten. J. Landw. **55**, 261. Ber. **40**, 2434 (1907); **40**, 2441 (1907). Z. Rüb. 620 (1907).

[3]) E. Votoček. Kondensation des Methylfurfurols mit Phlorogluzin. Ber. **30**, 1195 (1897).

I. Trennung des Furfurol- und des Methylfurfurolphlorogluzids mittels Alkohol

Der Goochsche Tiegel mit Inhalt wird in ein kleines Bechergläschen gestellt; in den Tiegel werden 15—20 ccm 96%igen Alkohols gegossen und Bechergläschen samt Tiegel in auf 60° erhitztes Wasser während 10 Minuten gebracht. Dann wird der Tiegel mit der Pumpe abgesogen. So wird mit Alkohol noch 2—3 mal verfahren. Das Methylfurfurolphlorogluzid ist in Lösung gegangen.

Der Tiegel mit Furfurolphlorogluzid wird während 2 Stunden im Wassertrockenschrank bei ungefähr 98° getrocknet und wieder im Filterwägefläschchen gewogen. Wir wissen also, wie viel der beiden Phlorogluzide anwesend waren.

Ellett (a. a. O.) fand, daß Furfurolphlorogluzid 1—2 mg an Gewicht verlor.

Bei Gemischen aus Arabinose und Rhamnose fand er von beiden etwas mehr als erwartet wurde. Nach E. wirken hier zwei Faktoren, nämlich das Furfurolphlorogluzid sei nicht ganz unlöslich und das Methylfurfurolphlorogluzid werde nicht vollständig ausgezogen.

Für diese Extraktion des Phlorogluzidgemisches haben Ishida und Tollens[1]) einen Soxhlet-ähnlichen Apparat gebaut, wofür auf die ursprüngliche Abhandlung verwiesen wird; er ist aber überflüssig.

Prüfung der Phlorogluzidtrennung.

Es wurde nach den Ellettschen Angaben (siehe oben) gehandelt.

Obschon es mir bei dieser Behandlung verschiedener Mengen aus Arabinose erhaltenen Phlorogluzids klar wurde, daß stets einige Milligramm zu wenig gefunden wurden, stellte es sich bei Phlorogluzidmengen, aus wechselnden Mengen Arabinose + Rhamnose erhalten, heraus, daß die zu erwartenden Mengen der beiden Saccharide fast ganz wiedergefunden wurden. Die Differenzen waren etwa 1—2 mg zu hoch. Aus zahlreichen Bestimmungen, welche ich deswegen machte, mögen einige Beispiele angegeben sein:

---

[1]) M. Ishida und B. Tollens. Über die Bestimmung von Pentosen und Methylpentosen in Getreide und Holzpilzen. Die Trennung der Phlorogluzide des Furfurols und des Methylfurfurols. J. Landw. 59, 59 und Chem. Zentralblatt 794, II (1911).

a) 89 mg Furfurolphlorogluzid aus Arabinose verloren bei der Alkoholbehandlung 1,5 mg an Gewicht.

b) 183 mg einer anderen Bestimmung 1,5 mg.

c) Von 141,5 mg Phlorogluzidgemisch, von welchem nach Berechnung 119 mg Furfurol- und 22,3 mg Methylfurfurolphlorogluzid wiedergefunden werden sollten, wurden 118,5 mg Furfurol- und 23 mg Methylfurfurolphlorogluzid wiedergefunden.

d) Von 155 mg Gemisch, von welchem nach Berechnung 92,5 mg Furfurol- und 62,5 mg Methylfurfurolphlorogluzid sein sollten, wurden 96 mg Furfurol- und 59 mg des anderen Phlorogluzids wiedererhalten.

e) Von 142,5 mg Gemisch (38,3 mg F. und 104,2 mg M. F.) wurden 38 mg F. und 104,5 mg M. F. wiedererhalten.

f) 74,5 mg Arabinose + 75 mg Rhamnose + 75 mg d-Glukose ergaben 104 mg Phlorogluzid (nach der Tabelle 103 mg). Wiedergefunden wurden 74,5 mg Arabinose und 76,6 mg Rhamnose.

g) 149 mg Arabinose + 48,7 mg Rhamnose ergaben 158 mg Phlorogluzid (nach der Tabelle 154 mg). Erhalten wurden 152,8 mg Arabinose und 49 mg Rhamnose.

Schlußfolgerung: Das Ellettsche Verfahren zur Trennung des Furfurol- und des Methylfurfurolphlorogluzids gibt sehr befriedigende Resultate.

2. Über die Löslichkeit des Furfurolphlorogluzids in 96%igem Alkohol

Weil hier von einer geringen Löslichkeit des Furfurolphlorogluzids in Alkohol die Rede ist, wollen wir uns danach erkundigen, inwieweit hier von einer eigentlichen Löslichkeit, d. h. von einer konstanten Löslichkeit gesprochen werden kann.

Bei der Alkoholbehandlung können wir schon beobachten, daß hier von konstanter Löslichkeit nicht die Rede sein kann. Der erste Auszug ist schwach gefärbt, der zweite weniger und der dritte oder vierte ist farblos, die folgenden ebenso.

Es scheint also eine geringe Menge einer Verunreinigung vorzukommen, welche schon in den ersten Auszug übergeht. Diese Verunreinigung ist demnach als die Ursache von dem geringen Gewichtsverlust von 1 à 2 mg beim alkoholischen Auszug des Furfurolphlorogluzids aufzufassen. Das Furfurolphlorogluzid selbst ist in 96%igem Alkohol völlig unlöslich.

d) Bestimmung, wenn Pentosen + Methylpentosen + Hexosen vorliegen

Mehrere Untersucher geben an, daß Hexosen die Menge Furfurol aus Pentosen vermehren. Warnier[1]) fand bei reinem Rohrzucker ungefähr 0,2%. Brauns[2]) fand bei Rohrzucker + d-Glukose ungefähr 0,6%. Stoklasa[3]) ungefähr 0,2%. Tollens, Kröber und Rimbach[4]) für Rohrzucker 1,15%. Die genannten Autoren sind jedoch der Meinung, daß es sich hier nicht um Furfurol, also nicht um Spuren Pentosane, sondern um Oxymethylfurfurol aus den Hexosen handle; das Oxymethylfurfurol ist sehr wenig mit Wasserdampf flüchtig und das erklärt die ungefähr 0,2% zu hohe Ausbeute.

Jedenfalls aber ist die geringe Erhöhung von weniger praktischem Einfluß, was aus den gegebenen Daten ohne weiteres erhellt. Auch Kluyver[5]) schreibt der Erhöhung etwas größere Bedeutung zu, da er aus einem Gemische von 1/4 g d-Glukose, 1/4 g Maltosehydrat + 1/4 g Rohrzucker ungefähr 0,5% zu hohe Ausbeute an Phlorogluzid erhielt.

Für unsren Zweck ist der Einfluß jedenfalls gering zu nennen.

Ein Gemisch aus 74,5 mg Arabinose, 75 mg Glukose und 75 mg Rhamnose gab nach der Pentosanbestimmung eine Ausbeute, welche um 1 mg höher war als erwartet wurde.

Werden also nicht mehr als 200 mg Saccharide für die Bestimmung genommen, so liegt der Einfluß der möglich anwesenden Hexose innerhalb der Fehlergrenze der Methode und ist also praktisch ohne Bedeutung.

Wo nicht molekulare Mengen bestimmt werden sollen, sondern kleinere Mengen Pentosen neben viel Hexosen, da empfiehlt Kluyver (a. a. O.) die Hexose vergären zu lassen. Daß der Einfluß der Hexosen sehr gering zu nennen ist, wurde mir klar aus einer Bestimmung mit 200 mg d-Glukose oder 200 mg d-Fruktose oder in einem Gemische beider, das nur Spuren von Phlorogluzid erzeugte.

---

[1]) W. L. A. Warnier, Sur le dosage des pentosanes. Rec. 17, 377 (1898).

[2]) D. H. Brauns, Over de bepaling van Furfuroïden naast Pentosanen. Pharm. W. 46, 326 (1909).

[3]) Stoklasa nach v. Lippmanns Chemie der Zuckerarten I, 103 (1904).

[4]) B. Tollens, E. Kröber und C. Rimbach, Anwendung der Pentosanbestimmungsmethode auf verschiedene veget. Stoffe usw. Angew. 508—510 (1902). Siehe auch Steenbergen a. a. O.

[5]) A. J. Kluyver, Biochemische Suikerbepalingen. Diss. S. 190. Delft 1914.

e) Bestimmung, wenn nur d-Glukuronsäure vorliegt

1. Furfurolmethode nach Krüger-Tollens-Lefèvre

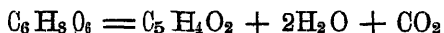
Weil auch die d-Glukuronsäure bei der Pentosanbestimmung Furfurol entwickelt, wird die Bestimmung genau so eingerichtet; die Kröbersche Tabelle ist hier nicht anwendbar.

Lefèvre[1]) hat ermittelt, daß:

1 Teil Furfurolphlorogluzid mit 3 Tln. Glukuronsäurelakton übereinstimmt.

2. Kohlendioxydmethode nach Lefèvre (a. a. O.)

Diese Methode beruht auf der damals schon bekannten Tatsache, daß Glukuronsäure bei der Salzsäuredestillation Kohlendioxyd entwickelt nach folgender Gleichung:

$$C_6H_8O_6 = C_5H_4O_2 + 2H_2O + CO_2$$

Die zur Wägung gebrachte Menge CO_2 muß also mit 4 multipliziert werden, um zum Gewichte des vorhandenen Laktons zu gelangen. Nach L. (a. a. O.) werden nach dieser Methode noch gute Resultate erhalten, wenn neben d-Glukuronsäure Pentosen und Hexosen vorkommen.

Lefèvre beschreibt seinen Apparat wie folgt: „Auf dem Destillationsrundkolben war ein Liebigscher Rückflußkühler mit innerem Mehrkugelrohr aufgesetzt, der Wasserdampf und Salzsäuregas sofort wieder verdichtete und so das fortgesetzte Hinzubringen von neuen Mengen Salzsäure erübrigte; an diesen waren hintereinander zwei zur Hälfte mit Wasser gefüllte Péligotsche Röhren geschlossen, die die Aufgabe hatten, Spuren übergegangener Salzsäure festzuhalten; an diese reihte sich ein Chlorcalciumrohr und an dieses der Kaliapparat, der an seinem anderen Ende unter Einschaltung eines Chlorcalciumrohres mit dem Aspirator verbunden war. Der Destillationskolben war ferner durch ein bis auf seinen Boden gehendes Rohr mit einem von Hügershoff-Leipzig gelieferten Kohlensäureabsorptionsapparat verbunden. Lefèvre (a. a. O) erhitzte (selbstverständlich ohne Nachguß von Salzsäure) genau wie bei der Furfuroldestillation mit 100 ccm Salzsäure vom spez. Gew.

---

[1]) K. U. Lefèvre, Untersuchungen über die Glucuronsäure. Diss. Göttingen 1907. Auch in H. Meyer, Analyse org. Verb. usw., 2. Aufl., S. 564 (1909) ist die Apparatur in der Lefèvreschen Verfassung beschrieben.

1,06 unter Benutzung eines Metallbades. Das unangenehme Stoßen wurde durch hineingelegte Kupferstückchen gemildert."

Die Destillation dauert etwa 3,5 Stunde.

Bemerkungen zu der Methode:

Bei der Ausführung genau nach den L.schen Angaben und der Zeichnung in seiner Dissertation gelang es mir nicht, zu einem regelmäßigen und guten Verlauf der Bestimmung zu gelangen. Es erscheint

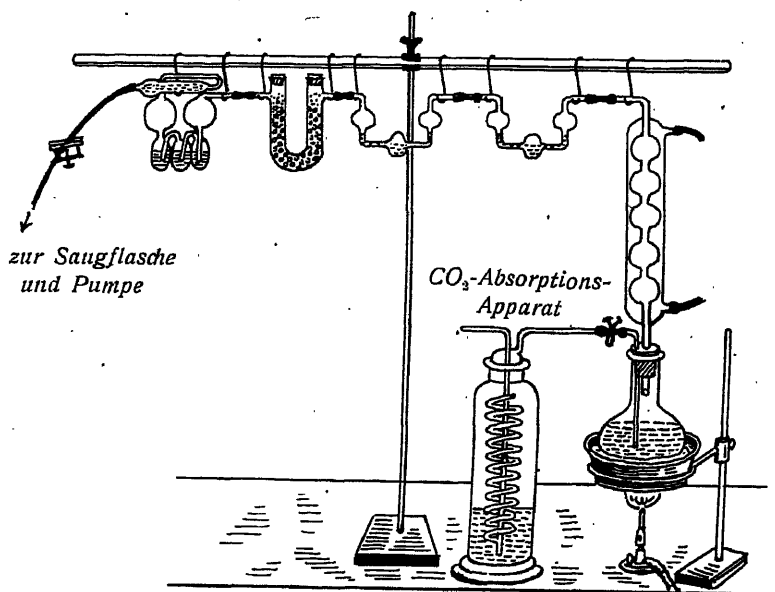



Fig. 4.

mir nämlich unbegreiflich, wie L. mit dem Aspirator (eine von unten tubulierte Flasche) auskam. Woran liegt das? Wenn der Destillationskolben erhitzt wird, und der Aspirator wird in Gang gesetzt, so verdrängt die Luft schon einen großen Teil des Wassers aus der Flasche. Nicht nur, daß dadurch die Kapazität, auch einer großen Flasche, bei weitem nicht für eine erst jetzt anfangende 3 1/2 stündige Dauer der Bestimmungen ausreicht, sondern der Apparat verliert nach und nach seine Zugkraft.

Ein anderer Fehler, wodurch die Bestimmung mißlingt, wird dadurch verursacht, daß auch bei sehr langsamer Anfangserhitzung des Kolbens nach und nach die Flüssigkeit in dem bis auf den

Boden reichenden Rohre in die Höhe steigt und bald in das Kohlensäureabsorptionsgefäß fließt. Es fehlt ja in dem Apparat ein konstanter Zugkraft- und ein Druckregulator. Beide Beschwerden habe ich beseitigen können durch Ersetzen der Flasche, durch langsames Ziehen mit der Wasserstrahlpumpe und das Anbringen eines geeigneten Quetschhahnes zwischen Kohlensäureabsorptionsapparat und Destillierkolben. Der also von mir etwas abgeänderte Lefèvresche Apparat ist in Fig. 4 wiedergegeben.

Ausführung der Bestimmung:

1. Wie L. (a. a. O.) angab, wird der ganze mit Säure und Substanz beschickte Apparat mit kohlensäurefreier Luft bei gewöhnlicher Temperatur durch zweistündiges Hindurchsaugen gefüllt. Der Geisslersche Kaliapparat ist nicht mit eingeschaltet. Im Kohlensäureabsorptionsapparat, den ich durch 2 Waschflaschen ersetzte, befindet sich Kalilauge (2 Teile KOH + 3 Teile Wasser).

2. Wie mir schon bei der Pentosanbestimmung deutlich geworden war, wurde ohne Schaden auf einem Drahtnetz erhitzt (siehe dort).

3. Das Chlorcalciumrohr, welches mit Hähnen versehen ist, wird, wie bei der Elementaranalyse üblich ist, mit gekörntem (nicht geschmolzenem) wasserfreiem Chlorcalcium gefüllt. Es wird durch Hindurchleiten von trockener Kohlensäure während 2 Stunden und dann noch während der Nacht mit Kohlensäure gefüllt, vorbereitet, schließlich wieder mittels der Pumpe mit trockner, kohlensäurefreier Luft gefüllt.

Der Geisslersche Kaliapparat, verbunden mit einem Chlorcalciumrohr, wird mit Kalilauge (2 Tle. KOH + 3 Tle. Wasser) gefüllt. Auch dieser Apparat ist mit Hähnchen versehen.

Übrigens ist alles aus der Figur ersichtlich.

4. Alle Kautschukverbindungen müssen aus dickwandigem Schlauch angefertigt werden, um den Apparat vollkommen schließend zu machen.

5. Große Aufmerksamkeit, besonders im Anfange der eigentlichen Bestimmung, fordert die Erhitzung.

Zuerst wird mit der Pumpe sehr schwach gesogen, wobei beide Quetschhähne so weit zugeschraubt sind, daß nur eine kleine Öffnung im Schlauch übrig bleibt, und die Blasen langsam durch den Geisslerschen Apparat streichen. Dann wird der Destillations-

kolben mit ganz kleiner Flamme erhitzt, damit die Luft im Apparat langsam und regelmäßig durch den Kaliapparat getrieben wird.

Sobald die Flüssigkeit in dem bis auf den Boden reichenden Rohr zu steigen beginnt, wird mit dem in der Nähe sich befindenden Quetschhahn der Schlauch geschlossen, weil sonst die Flüssigkeit bald in den Kohlensäureabsorptionsapparat überzusteigen beginnt. Nach und nach wird die Flamme erhöht und kann es erforderlich sein, die Pumpe etwas stärker saugen zu lassen. Nach einiger Zeit wird durch vorsichtiges Abschrauben des rechten Quetschhahnes versucht, ob der Kolbeninhalt noch im Rohre emporsteigt; ist das nicht mehr der Fall, so wird der Quetschhahn etwas aufgeschraubt, damit durch eine enge Öffnung im Schlauch kohlensäurefreie Luft in den Kolben eintreten kann. Mit der Pumpe und mit den beiden Quetschhähnen, welche also einen wesentlichen Teil des Apparates bilden, ist der Luftstrom bequem zu regulieren.

Vom Augenblick des beginnenden Siedens an, dauert die Ausführung 3½ bis 4 Stunden.

Das Ausschalten der Apparate verlangt nun etwas Aufmerksamkeit. Weil nämlich ein ruhiger, langsamer Strom durch den Apparat streichen muß, ist während der Operation eine Luftverdünnung eingetreten, welcher wir Rechnung zu tragen haben. Zuerst wird der linke Hahn des Geisslerschen Apparates geschlossen, dann der rechte Hahn des U-Chlorcalciumrohres. Danach dieses Rohr vom Péligotschen Rohr getrennt, die Pumpe abgestellt; die Lampe ausgedreht, der Kaliabsorptionsapparat losgelöst und schließlich die linke Seite vom Geisslerschen Apparat losgelöst. Jetzt haben wir also letzteren Apparat + Chlorcalciumrohr befreit; in beiden herrscht Luftverdünnung und dürfen wir das nicht ohne weiteres durch Öffnung des Hahnes ausgleichen, weil dann kohlensäurehaltige Luft in den Kaliapparat strömt. Wir verbinden nun das Chlorcalciumrohr mit dem losgelösten Kaliabsorptionsapparat und öffnen langsam den Hahn. Schließlich wird der Geisslersche Kaliapparat losgelöst und gewogen. Die Gewichtszunahme mit 4 multipliziert gibt die Menge Glukuronsäurelakton an.

Bemerkung:

Nach L. dürfen Karbonate oder andere Karboxylsäuren nicht anwesend sein, oder müssen auf andere Weise bestimmt werden. Karbonate stören jedoch nicht, weil das CO_2 schon bei der ersten

Füllung mit CO_2-freier Luft verschwindet. Es ist vorteilhaft, wenig Wasser (nur einige ccm) in die Péligotschen Röhren zu bringen, weil ich einmal bei größeren Mengen, Kohlensäureverlust erhielt. Aus wenig Wasser nimmt die kohlensäurefreie Luft völlig die gelöste Kohlensäure beim Durchstreichen mit.

Es ist besser 4 Stunden die Luft durchzusaugen, wie L. angab.

Obschon Lefèvre (a. a. O.) schon darauf hingewiesen hat, daß Hexosen und Pentosen die Ergebnisse nicht beeinflussen, habe ich den Versuch mit einem Gemisch aus 230 mg Glukose, 22,5 mg Galaktose, 53 mg Arabinose und 42 mg Rhamnose gemacht. Der Geißlersche Apparat hatte um 2 mg zugenommen; das würde also 8 mg Säure fälschlich angeben in ungefähr 350 mg Gemisch, also ungefähr 2 %, hat also geringen Einfluß. Will man diesen Einfluß in einem gegebenen Falle beseitigen, so macht man den Versuch mit derselben Menge Saccharide, welche inzwischen bestimmt wurden, und bringt die erhaltene Menge CO_2 bei der Säurebestimmung in Abzug. Das geschah bei der Bestimmung in Kastaniensaponin und anderen Saponinen (siehe Kap. X).

f) Bestimmung, wenn Pentosen, Methylpentosen, Hexosen und d-Glukuronsäure vorliegen

Während die d-Glukuronsäurebestimmung neben Hexosen keine Schwierigkeiten bietet und nach der Pentosanbestimmung (siehe e) bestimmt werden kann, ist sie neben Pentosen nicht ohne weiteres anzuwenden.

Wird nach der CO_2-Methode Lefèvres (siehe e) verfahren, so ist sie neben Pentosen zu bestimmen. Es ergibt sich, daß die d-Glukuronsäure mit $^1/_3$ ihres Gewichtes an Furfurolphlorogluzids korrespondiert. Wird dieses Gewicht von dem Totalgewichte des mittels der Pentosanbestimmung erhaltenen Furfurolphlorogluzids in Abzug gebracht, so ist daraus der Gehalt an Pentosen aus der Kröberschen Tabelle aufzusuchen.

Wenn überdies noch Methylpentosen vorliegen, so wird aus dem Phlorogluzidgemisch zuerst das Methylfurfurolphlorogluzid mittels Alkohols nach Ellett (Seite 68) ausgezogen und aus dem Gewichtsverlust in den Ellettschen und Mayerschen Tabellen der Methylpentosengehalt aufgesucht. Mit dem ungelöst gebliebenen Furfurolphlorogluzid der Pentose + d-Glukuronsäure wird wie oben verfahren.

g) Bestimmung, wenn d-Glukuron- neben d-Galakturonsäure vorliegt

Diese Bestimmung ist zurzeit noch nicht nach obigen Methoden möglich, weil die beiden Säuren sich in dieser Hinsicht ähnlich verhalten.

Galakturonsäure als Schleimsäure wie bei Galaktose (Kap. IV). Glukuron- + Galakturonsäure nach der Pentosan- oder nach der CO_2-Methode, dann Abzug von Galakturonsäure. Glukuronsäure wird aus der Differenz gefunden.

h) Bestimmung, wenn nur d-Galakturonsäure vorliegt

Zurzeit ist hierfür keine Bestimmungsmethode bekannt und kann vorläufig noch nicht ausgearbeitet werden, weil die d-Galakturonsäure noch nicht in eine geeignete Verbindung übergeführt worden ist, noch selber oder deren Lakton kristallisiert erhalten worden ist. Annähernd würde sie als Schleimsäure bestimmt werden können, wie sie für d-Galaktose ausgearbeitet worden ist (siehe Kapitel IV), wenn bekannt ist, wie viel Schleimsäure verschiedene Mengen d-Galakturonsäure geben. Vorläufig kann sie weiter annähernd genau nach der Pentosanbestimmung, wie bei d-Glukuronsäure angegeben (siehe e), bestimmt werden oder nach der Lefèvreschen CO_2-Methode (siehe e). Das gilt ebenso von der Aldehyd-Schleimsäure.

i) Bestimmung, wenn d-Galakturonsäure, d-Glukuronsäure, Pentosen, Methylpentosen und Hexosen vorliegen

Neben d-Glukuronsäure ist d-Galakturonsäure als Schleimsäure (siehe Galaktosebestimmung, Kap. IV) bestimmbar.

Neben Pentosen kann sie annähernd in der bei d-Glukuronsäure angegebenen Weise bestimmt werden. Ebenso ist das der Fall, wenn Methylpentosen vorliegen. Das Methylfurfurolphloroglucid wird in Alkohol gelöst und das Furfurolphlorogluzid, aus Galakturonsäure erhalten, bleibt zurück (siehe wieder e).

Hexosen stören praktisch nicht.

Kommen d-Galakturonsäure + Pentosen + Methylpentosen + Hexosen vor, so wird wie bei f verfahren.

Krögersche Tabelle zur Bestimmung der Pentosen und Pentosane aus dem erhaltenen Furfurolphlorogluzid[1])

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Phlorogluzid	Furfurol	Arabinose	Araban	Xylose	Xylan	Pentose	Pentosan
0,030	0,0182	0,0391	0,0344	0,0324	0,0285	0,0358	0,0315
0,031	0,0188	0,0402	0,0354	0,0333	0,0293	0,0368	0,0324
0,032	0,0193	0,0413	0,0363	0,0342	0,0301	0,0378	0,0333
0,033	0,0198	0,0424	0,0373	0,0352	0,0309	0,0388	0,0341
0,034	0,0203	0,0435	0,0383	0,0361	0,0317	0,0398	0,0350
0,035	0,0209	0,0446	0,0393	0,0370	0,0326	0,0408	0,0359
0,036	0,0214	0,0457	0,0402	0,0379	0,0334	0,0418	0,0368
0,037	0,0219	0,0468	0,0412	0,0388	0,0342	0,0428	0,0377
0,038	0,0224	0,0479	0,0422	0,0398	0,0350	0,0439	0,0386
0,039	0,0229	0,0490	0,0431	0,0407	0,0358	0,0449	0,0395
0,040	0,0235	0,0501	0,0441	0,0416	0,0366	0,0459	0,0404
0,041	0,0240	0,0512	0,0451	0,0425	0,0374	0,0469	0,0413
0,042	0,0245	0,0523	0,0460	0,0434	0,0382	0,0479	0,0422
0,043	0,0250	0,0534	0,0470	0,0443	0,0390	0,0489	0,0431
0,044	0,0255	0,0545	0,0480	0,0452	0,0398	0,0499	0,0440
0,045	0,0260	0,0556	0,0490	0,0462	0,0406	0,0509	0,0448
0,046	0,0266	0,0567	0,0499	0,0471	0,0414	0,0519	0,0457
0,047	0,0271	0,0578	0,0509	0,0480	0,0422	0,0529	0,0466
0,048	0,0276	0,0589	0,0519	0,0489	0,0430	0,0539	0,0475
0,049	0,0281	0,0600	0,0528	0,0498	0,0438	0,0549	0,0484
0,050	0,0286	0,0611	0,0538	0,0507	0,0446	0,0559	0,0492
0,051	0,0292	0,0622	0,0548	0,0516	0,0454	0,0569	0,0501
0,052	0,0297	0,0633	0,0557	0,0525	0,0462	0,0579	0,0510
0,053	0,0302	0,0644	0,0567	0,0534	0,0470	0,0589	0,0519
0,054	0,0307	0,0655	0,0576	0,0543	0,0478	0,0599	0,0528
0,055	0,0312	0,0666	0,0586	0,0553	0,0486	0,0610	0,0537
0,056	0,0318	0,0677	0,0596	0,0562	0,0494	0,0620	0,0546
0,057	0,0323	0,0688	0,0605	0,0571	0,0502	0.0630	0,0555
0,058	0,0328	0,0699	0,0615	0,0580	0,0510	0,0640	0,0564
0,059	0,0333	0,0710	0,0624	0,0589	0,0518	0,0650	0,0573
0,060	0,0338	0,0721	0,0634	0,0598	0,0526	0,0660	0,0581
0,061	0,0344	0,0732	0,0644	0,0607	0,0534	0,0670	0,0590
0,062	0,0349	0,0743	0,0653	0,0616	0,0542	0,0680	0,0599
0,063	0,0354	0,0754	0,0663	0,0626	0,0550	0,0690	0,0608
0,064	0,0359	0,0765	0,0673	0,0635	0,0558	0,0700	0,0617
0,065	0,0364	0,0776	0,0683	0,0644	0,0567	0,0710	0,0625
0,066	0,0370	0,0787	0,0692	0,0653	0,0575	0,0720	0,0634
0,067	0,0375	0,0798	0,0702	0,0662	0,0583	0,0730	0,0643
0,068	0,0380	0,0809	0,0712	0,0672	0,0591	0,0741	0,0652
0,069	0,0385	0,0820	0,0721	0,0681	0,0599	0,0751	0,0661
0,070	0,0390	0,0831	0,0731	0,0690	0,0607	0,0761	0,0670
0,071	0,0396	0,0842	0,0741	0,0699	0,0615	0,0771	0,0679
0,072	0,0401	0,0853	0,0750	0,0708	0,0623	0,0781	0,0688
0,073	0,0406	0,0864	0,0760	0,0717	0,0631	0,0791	0,0697
0,074	0,0411	0,0875	0,0770	0,0726	0,0639	0,0801	0,0706
0,075	0,0416	0,0886	0,0780	0,0736	0,0647	0,0811	0,0714
0,076	0,0422	0,0897	0,0789	0,0745	0,0655	0,0821	0,0722
0,077	0,0427	0,0908	0,0799	0,0754	0,0663	0,0831	0,0731
0,078	0,0432	0,0919	0,0809	0,0763	0,0671	0,0841	0,0740
0,079	0,0437	0,0930	0,0818	0,0772	0,0679	0,0851	0,0749
0,080	0,0442	0,0941	0,0828	0,0781	0,0687	0,0861	0,0758

1) Krüger, Diss. Rostock 1895

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Phlorogluzid	Furfurol	Arabinose	Araban	Xylose	Xylan	Pentose	Pentosan
0,081	0,0448	0,0952	0,0838	0,0790	0,0695	0,0871	0,0767
0,082	0,0453	0,0963	0,0847	0,0799	0,0703	0,0881	0,0776
0,083	0,0458	0,0974	0,0857	0,0808	0,0711	0,0891	0,0785
0,084	0,0463	0,0985	0,0867	0,0817	0,0719	0,0901	0,0794
0,085	0,0468	0,0996	0,0877	0,0827	0,0727	0,0912	0,0803
0,086	0,0474	0,1007	0,0886	0,0836	0,0735	0,0922	0,0812
0,087	0,0479	0,1018	0,0896	0,0845	0,0743	0,0932	0,0821
0,088	0,0484	0,1029	0,0906	0,0854	0,0751	0,0942	0,0830
0,089	0,0489	0,1040	0,0915	0,0863	0,0759	0,0952	0,0838
0,090	0,0494	0,1051	0,0925	0,0872	0,0767	0,0962	0,0847
0,091	0,0499	0,1062	0,0935	0,0881	0,0775	0,0972	0,0856
0,092	0,0505	0,1073	0,0944	0,0890	0,0783	0,0982	0,0865
0,093	0,0510	0,1084	0,0954	0,0900	0,0791	0,0992	0,0874
0,094	0,0515	0,1095	0,0964	0,0909	0,0800	0,1002	0,0883
0,095	0,0520	0,1106	0,0974	0,0918	0,0808	0,1012	0,0891
0,096	0,0525	0,1117	0,0983	0,0927	0,0816	0,1022	0,0899
0,097	0,0531	0,1128	0,0993	0,0936	0,0824	0,1032	0,0908
0,098	0,0536	0,1139	0,1003	0,0946	0,0832	0,1043	0,0917
0,099	0,0541	0,1150	0,1012	0,0955	0,0840	0,1053	0,0926
0,100	0,0546	0,1161	0,1022	0,0964	0,0848	0,1063	0,0935
0,101	0,0551	0,1171	0,1032	0,0973	0,0856	0,1073	0,0944
0,102	0,0557	0,1182	0,1041	0,0982	0,0864	0,1083	0,0953
0,103	0,0562	0,1193	0,1051	0,0991	0,0872	0,1093	0,0962
0,104	0,0567	0,1204	0,1060	0,1000	0,0880	0,1103	0,0971
0,105	0,0572	0,1215	0,1070	0,1010	0,0888	0,1113	0,0979
0,106	0,0577	0,1226	0,1080	0,1019	0,0896	0,1123	0,0988
0,107	0,0582	0,1237	0,1089	0,1028	0,0904	0,1133	0,0997
0,108	0,0588	0,1248	0,1099	0,1037	0,0912	0,1143	0,1006
0,109	0,0593	0,1259	0,1108	0,1046	0,0920	0,1153	0,1015
0,110	0,0598	0,1270	0,1118	0,1055	0,0928	0,1163	0,1023
0,111	0,0603	0,1281	0,1128	0,1064	0,0936	0,1173	0,1032
0,112	0,0608	0,1292	0,1137	0,1073	0,0944	0,1183	0,1041
0,113	0,0614	0,1303	0,1147	0,1082	0,0952	0,1193	0,1050
0,114	0,0619	0,1314	0,1156	0,1091	0,0960	0,1203	0,1059
0,115	0,0624	0,1325	0,1166	0,1101	0,0968	0,1213	0,1067
0,116	0,0629	0,1336	0,1176	0,1110	0,0976	0,1223	0,1076
0,117	0,0634	0,1347	0,1185	0,1119	0,0984	0,1233	0,1085
0,118	0,0640	0,1358	0,1195	0,1128	0,0992	0,1243	0,1094
0,119	0,0645	0,1369	0,1204	0,1137	0,1000	0,1253	0,1103
0,120	0,0650	0,1380	0,1214	0,1146	0,1008	0,1263	0,1111
0,121	0,0655	0,1391	0,1224	0,1155	0,1016	0,1273	0,1120
0,122	0,0660	0,1402	0,1233	0,1164	0,1024	0,1283	0,1129
0,123	0,0665	0,1413	0,1243	0,1173	0,1032	0,1293	0,1138
0,124	0,0671	0,1424	0,1253	0,1182	0,1040	0,1303	0,1147
0,125	0,0676	0,1435	0,1263	0,1192	0,1049	0,1314	0,1156
0,126	0,0681	0,1446	0,1272	0,1201	0,1057	0,1324	0,1165
0,127	0,0686	0,1457	0,1282	0,1210	0,1065	0,1334	0,1174
0,128	0,0691	0,1468	0,1292	0,1219	0,1073	0,1344	0,1183
0,129	0,0697	0,1479	0,1301	0,1228	0,1081	0,1354	0,1192
0,130	0,0702	0,1490	0,1311	0,1237	0,1089	0,1364	0,1201
0,131	0,0707	0,1501	0,1321	0,1246	0,1097	0,1374	0,1210
0,132	0,0712	0,1512	0,1330	0,1255	0,1105	0,1384	0,1219
0,133	0,0717	0,1523	0,1340	0,1264	0,1113	0,1394	0,1227
0,134	0,0723	0,1534	0,1350	0,1273	0,1121	0,1404	0,1236
0,135	0,0728	0,1545	0,1360	0,1283	0,1129	0,1414	0,1244

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Phlorogluzid	Furfurol	Arabinose	Araban	Xylose	Xylan	Pentose	Pentosan
0,136	0,0733	0,1556	0,1369	0,1292	0,1137	0,1424	0,1253
0,137	0,0738	0,1567	0,1379	0,1301	0,1145	0,1434	0,1262
0,138	0,0743	0,1578	0,1389	0,1310	0,1153	0,1444	0,1271
0,139	0,0748	0,1589	0,1398	0,1319	0,1161	0,1454	0,1280
0,140	0,0754	0,1600	0,1408	0,1328	0,1169	0,1464	0,1288
0,141	0,0759	0,1611	0,1418	0,1337	0,1177	0,1474	0,1297
0,142	0,0764	0,1622	0,1427	0,1346	0,1185	0,1484	0,1306
0,143	0,0769	0,1633	0,1437	0,1355	0,1193	0,1494	0,1315
0,144	0,0774	0,1644	0,1447	0,1364	0,1201	0,1504	0,1324
0,145	0,0780	0,1655	0,1457	0,1374	0,1209	0,1515	0,1333
0,146	0,0785	0,1666	0,1466	0,1383	0,1217	0,1525	0,1342
0,147	0,0790	0,1677	0,1476	0,1392	0,1225	0,1535	0,1351
0,148	0,0795	0,1688	0,1486	0,1401	0,1233	0,1545	0,1360
0,149	0,0800	0,1699	0,1495	0,1410	0,1241	0,1555	0,1369
0,150	0,0805	0,1710	0,1505	0,1419	0,1249	0,1565	0,1377
0,151	0,0811	0,1721	0,1515	0,1428	0,1257	0,1575	0,1386
0,152	0,0816	0,1732	0,1524	0,1437	0,1265	0,1585	0,1395
0,153	0,0821	0,1743	0,1534	0,1446	0,1273	0,1595	0,1404
0,154	0,0826	0,1754	0,1544	0,1455	0,1281	0,1605	0,1413
0,155	0,0831	0,1765	0,1554	0,1465	0,1289	0,1615	0,1421
0,156	0,0837	0,1776	0,1563	0,1474	0,1297	0,1625	0,1430
0,157	0,0842	0,1787	0,1573	0,1483	0,1305	0,1635	0,1439
0,158	0,0847	0,1798	0,1583	0,1492	0,1313	0,1645	0,1448
0,159	0,0852	0,1809	0,1592	0,1501	0,1321	0,1655	0,1457
0,160	0,0857	0,1820	0,1602	0,1510	0,1329	0,1665	0,1465
0,161	0,0863	0,1831	0,1612	0,1519	0,1337	0,1675	0,1474
0,162	0,0868	0,1842	0,1621	0,1528	0,1345	0,1685	0,1483
0,163	0,0873	0,1853	0,1631	0,1537	0,1353	0,1695	0,1492
0,164	0,0878	0,1864	0,1640	0,1546	0,1361	0,1705	0,1501
0,165	0,0883	0,1875	0,1650	0,1556	0,1369	0,1716	0,1510
0,166	0,0888	0,1886	0,1660	0,1565	0,1377	0,1726	0,1519
0,167	0,0894	0,1897	0,1669	0,1574	0,1385	0,1736	0,1528
0,168	0,0899	0,1908	0,1679	0,1583	0,1393	0,1746	0,1537
0,169	0,0904	0,1919	0,1688	0,1592	0,1401	0,1756	0,1546
0,170	0,0909	0,1930	0,1698	0,1601	0,1409	0,1766	0,1554
0,171	0,0914	0,1941	0,1708	0,1610	0,1417	0,1776	0,1563
0,172	0,0920	0,1952	0,1717	0,1619	0,1425	0,1786	0,1572
0,173	0,0925	0,1963	0,1727	0,1628	0,1433	0,1796	0,1581
0,174	0,0930	0,1974	0,1736	0,1637	0,1441	0,1806	0,1590
0,175	0,0935	0,1985	0,1746	0,1647	0,1449	0,1816	0,1598
0,176	0,0940	0,1996	0,1756	0,1656	0,1457	0,1826	0,1607
0,177	0,0946	0,2007	0,1765	0,1665	0,1465	0,1836	0,1616
0,178	0,0951	0,2018	0,1775	0,1674	0,1473	0,1846	0,1625
0,179	0,0956	0,2029	0,1784	0,1683	0,1481	0,1856	0,1634
0,180	0,0961	0,2039	0,1794	0,1692	0,1489	0,1866	0,1642
0,181	0,0966	0,2050	0,1804	0,1701	0,1497	0,1876	0,1651
0,182	0,0971	0,2061	0,1813	0,1710	0,1505	0,1886	0,1660
0,183	0,0977	0,2072	0,1823	0,1719	0,1513	0,1896	0,1669
0,184	0,0982	0,2082	0,1832	0,1728	0,1521	0,1906	0,1678
0,185	0,0987	0,2093	0,1842	0,1738	0,1529	0,1916	0,1686
0,186	0,0992	0,2104	0,1851	0,1747	0,1537	0,1926	0,1695
0,187	0,0997	0,2115	0,1861	0,1756	0,1545	0,1936	0,1704
0,188	0,1003	0,2126	0,1870	0,1765	0,1553	0,1946	0,1712
0,189	0,1008	0,2136	0,1880	0,1774	0,1561	0,1955	0,1721
0,190	0,1013	0,2147	0,1889	0,1783	0,1569	0,1965	0,1729

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Phlorogluzid	Furfurol	Arabinose	Araban	Xylose	Xylan	Pentose	Pentosan
0,191	0,1018	0,2158	0,1899	0,1792	0,1577	0,1975	0,1738
0,192	0,1023	0,2168	0,1908	0,1801	0,1585	0,1985	0,1747
0,193	0,1028	0,2179	0,1918	0,1810	0,1593	0,1995	0,1756
0,194	0,1034	0,2190	0,1927	0,1819	0,1601	0,2005	0,1764
0,195	0,1039	0,2201	0,1937	0,1829	0,1609	0,2015	0,1773
0,196	0,1044	0,2212	0,1946	0,1838	0,1617	0,2025	0,1782
0,197	0,1049	0,2222	0,1956	0,1847	0,1625	0,2035	0,1791
0,198	0,1054	0,2233	0,1965	0,1856	0,1633	0,2045	0,1800
0,199	0,1059	0,2244	0,1975	0,1865	0,1641	0,2055	0,1808
0,200	0,1065	0,2255	0,1984	0,1874	0,1649	0,2065	0,1817
0,201	0,1070	0,2266	0,1994	0,1883	0,1657	0,2075	0,1826
0,202	0,1075	0,2276	0,2003	0,1892	0,1665	0,2085	0,1835
0,203	0,1080	0,2287	0,2013	0,1901	0,1673	0,2095	0,1844
0,204	0,1085	0,2298	0,2022	0,1910	0,1681	0,2105	0,1853
0,205	0,1090	0,2309	0,2032	0,1920	0,1689	0,2115	0,1861
0,206	0,1096	0,2320	0,2041	0,1929	0,1697	0,2125	0,1869
0,207	0,1101	0,2330	0,2051	0,1938	0,1705	0,2134	0,1878
0,208	0,1106	0,2341	0,2060	0,1947	0,1713	0,2144	0,1887
0,209	0,1111	0,2352	0,2069	0,1956	0,1721	0,2154	0,1896
0,210	0,1116	0,2363	0,2079	0,1965	0,1729	0,2164	0,1904
0,211	0,1121	0,2374	0,2089	0,1975	0,1737	0,2174	0,1913
0,212	0,1127	0,2384	0,2098	0,1984	0,1745	0,2184	0,1922
0,213	0,1132	0,2395	0,2108	0,1993	0,1753	0,2194	0,1931
0,214	0,1137	0,2406	0,2117	0,2002	0,1761	0,2204	0,1940
0,215	0,1142	0,2417	0,2127	0,2011	0,1770	0,2214	0,1948
0,216	0,1147	0,2428	0,2136	0,2020	0,1778	0,2224	0,1957
0,217	0,1152	0,2438	0,2146	0,2029	0,1786	0,2234	0,1966
0,218	0,1158	0,2449	0,2155	0,2038	0,1794	0,2244	0,1974
0,219	0,1163	0,2460	0,2165	0,2047	0,1802	0,2254	0,1983
0,220	0,1168	0,2471	0,2174	0,2057	0,1810	0,2264	0,1992
0,221	0,1173	0,2482	0,2184	0,2066	0,1818	0,2274	0,2001
0,222	0,1178	0,2492	0,2193	0,2075	0,1826	0,2284	0,2010
0,223	0,1183	0,2503	0,2203	0,2084	0,1834	0,2294	0,2019
0,224	0,1189	0,2514	0,2212	0,2093	0,1842	0,2304	0,2028
0,225	0,1194	0,2525	0,2222	0,2102	0,1850	0,2314	0,2037
0,226	0,1199	0,2536	0,2232	0,2111	0,1858	0,2324	0,2046
0,227	0,1204	0,2546	0,2241	0,2121	0,1866	0,2334	0,2054
0,228	0,1209	0,2557	0,2251	0,2130	0,1874	0,2344	0,2063
0,229	0,1214	0,2568	0,2260	0,2139	0,1882	0,2354	0,2072
0,230	0,1220	0,2579	0,2270	0,2148	0,1890	0,2364	0,2081
0,231	0,1225	0,2590	0,2280	0,2157	0,1898	0,2374	0,2089
0,232	0,1230	0,2600	0,2289	0,2166	0,1906	0,2383	0,2097
0,233	0,1235	0,2611	0,2299	0,2175	0,1914	0,2393	0,2106
0,234	0,1240	0,2622	0,2308	0,2184	0,1922	0,2403	0,2115
0,235	0,1245	0,2633	0,2318	0,2193	0,1930	0,2413	0,2124
0,236	0,1251	0,2644	0,2327	0,2202	0,1938	0,2423	0,2132
0,237	0,1256	0,2654	0,2337	0,2211	0,1946	0,2433	0,2141
0,238	0,1261	0,2665	0,2346	0,2220	0,1954	0,2443	0,2150
0,239	0,1266	0,2676	0,2356	0,2229	0,1962	0,2453	0,2159
0,240	0,1271	0,2687	0,2365	0,2239	0,1970	0,2463	0,2168
0,241	0,1276	0,2698	0,2375	0,2248	0,1978	0,2473	0,2176
0,242	0,1281	0,2708	0,2384	0,2257	0,1986	0,2483	0,2185
0,243	0,1287	0,2719	0,2394	0,2266	0,1994	0,2493	0,2194
0,244	0,1292	0,2730	0,2403	0,2275	0,2002	0,2503	0,2203
0,245	0,1297	0,2741	0,2413	0,2284	0,2010	0,2513	0,2212

1. Phlorogluzid	2. Furfurol	3. Arabinose	4. Araban	5. Xylose	6. Xylan	7. Pentose	8. Pentosan
0,246	0,1302	0,2752	0,2422	0,2293	0,2018	0,2523	0,2220
0,247	0,1307	0,2762	0,2432	0,2302	0,2026	0,2533	0,2229
0,248	0,1312	0,2773	0,2441	0,2311	0,2034	0,2543	0,2238
0,249	0,1318	0,2784	0,2451	0,2320	0,2042	0,2553	0,2247
0,250	0,1323	0,2795	0,2460	0,2330	0,2050	0,2563	0,2256
0,251	0,1328	0,2806	0,2470	0,2339	0,2058	0,2573	0,2264
0,252	0,1333	0,2816	0,2479	0,2348	0,2066	0,2582	0,2272
0,253	0,1338	0,2827	0,2489	0,2357	0,2074	0,2592	0,2281
0,254	0,1343	0,2838	0,2498	0,2366	0,2082	0,2602	0,2290
0,255	0,1349	0,2849	0,2508	0,2375	0,2090	0,2612	0,2299
0,256	0,1354	0,2860	0,2517	0,2384	0,2098	0,2622	0,2307
0,257	0,1359	0,2870	0,2526	0,2393	0,2106	0,2632	0,2316
0,258	0,1364	0,2881	0,2536	0,2402	0,2114	0,2642	0,2325
0,259	0,1369	0,2892	0,2545	0,2411	0,2122	0,2652	0,2334
0,260	0,1374	0,2903	0,2555	0,2420	0,2130	0,2662	0,2343
0,261	0,1380	0,2914	0,2565	0,2429	0,2138	0,2672	0,2351
0,262	0,1385	0,2924	0,2574	0,2438	0,2146	0,2681	0,2359
0,263	0,1390	0,2935	0,2584	0,2447	0,2154	0,2691	0,2368
0,264	0,1395	0,2946	0,2593	0,2456	0,2162	0,2701	0,2377
0,265	0,1400	0,2957	0,2603	0,2465	0,2170	0,2711	0,2385
0,266	0,1405	0,2968	0,2612	0,2474	0,2178	0,2721	0,2394
0,267	0,1411	0,2978	0,2622	0,2483	0,2186	0,2731	0,2403
0,268	0,1416	0,2989	0,2631	0,2492	0,2194	0,2741	0,2412
0,269	0,1421	0,3000	0,2641	0,2502	0,2202	0,2751	0,2421
0,270	0,1426	0,3011	0,2650	0,2511	0,2210	0,2761	0,2429
0,271	0,1431	0,3022	0,2660	0,2520	0,2218	0,2771	0,2438
0,272	0,1436	0,3032	0,2669	0,2529	0,2226	0,2781	0,2447
0,273	0,1442	0,3043	0,2679	0,2538	0,2234	0,2791	0,2456
0,274	0,1447	0,3054	0,2688	0,2547	0,2242	0,2801	0,2465
0,275	0,1452	0,3065	0,2698	0,2556	0,2250	0,2811	0,2473
0,276	0,1457	0,3076	0,2707	0,2565	0,2258	0,2821	0,2482
0,277	0,1462	0,3086	0,2717	0,2574	0,2266	0,2830	0,2490
0,278	0,1467	0,3097	0,2726	0,2583	0,2274	0,2840	0,2499
0,279	0,1473	0,3108	0,2736	0,2592	0,2282	0,2850	0,2508
0,280	0,1478	0,3119	0,2745	0,2602	0,2290	0,2861	0,2517
0,281	0,1483	0,3130	0,2755	0,2611	0,2298	0,2871	0,2526
0,282	0,1488	0,3140	0,2764	0,2620	0,2306	0,2880	0,2534
0,283	0,1493	0,3151	0,2774	0,2629	0,2314	0,2890	0,2543
0,284	0,1498	0,3162	0,2783	0,2638	0,2322	0,2900	0,2552
0,285	0,1504	0,3173	0,2793	0,2647	0,2330	0,2910	0,2561
0,286	0,1509	0,3184	0,2802	0,2656	0,2338	0,2920	0,2570
0,287	0,1514	0,3194	0,2812	0,2665	0,2346	0,2930	0,2578
0,288	0,1519	0,3205	0,2821	0,2674	0,2354	0,2940	0,2587
0,289	0,1524	0,3216	0,2831	0,2683	0,2362	0,2950	0,2596
0,290	0,1529	0,3227	0,2840	0,2693	0,2370	0,2960	0,2605
0,291	0,1535	0,3238	0,2850	0,2702	0,2378	0,2970	0,2614
0,292	0,1540	0,3248	0,2859	0,2711	0,2386	0,2980	0,2622
0,293	0,1545	0,3259	0,2868	0,2720	0,2394	0,2990	0,2631
0,294	0,1550	0,3270	0,2878	0,2729	0,2402	0,3000	0,2640
0,295	0,1555	0,3281	0,2887	0,2738	0,2410	0,3010	0,2649
0,296	0,1560	0,3292	0,2897	0,2747	0,2418	0,3020	0,2658
0,297	0,1566	0,3302	0,2906	0,2756	0,2426	0,3030	0,2666
0,298	0,1571	0,3313	0,2916	0,2765	0,2434	0,3040	0,2675
0,299	0,1576	0,3324	0,2925	0,2774	0,2442	0,3050	0,2684
0,300	0,1581	0,3335	0,2935	0,2784	0,2450	0,3060	0,2693

Ellettsche Tabelle zur Bestimmung des Rhamnosehydrats aus dem erhaltenen Methylfurfurolphlorogluzid.

Phlorogluzid	Rhamnosehydrat	Phlorogluzid	Rhamnosehydrat	Phlorogluzid	Rhamnosehydrat
0,010	0,0266	0,054	0,09370	0,098	0,15400
0,011	0,0279	0,055	0,09515	0,099	0,15530
0,012	0,0295	0,056	0,09660	0,100	0,15660
0,013	0,0311	0,057	0,09805	0,101	0,15786
0,014	0,0327	0,058	0,09950	0,102	0,15912
0,015	0,0343	0,059	0,10095	0,103	0,16038
0,016	0,0359	0,060	0,10240	0,104	0,16164
0,017	0,0375	0,061	0,10381	0,105	0,16290
0,018	0,0391	0,062	0,10522	0,106	0,16416
0,019	0,0407	0,063	0,10663	0,107	0,16542
0,020	0,0423	0,064	0,10804	0,108	0,16668
0,021	0,04385	0,065	0,10945	0,109	0,16794
0,022	0,0454	0,066	0,11086	0,110	0,16920
0,023	0,04695	0,067	0,11227	0,111	0,17043
0,024	0,0485	0,068	0,11368	0,112	0,17166
0,025	0,05005	0,069	0,11509	0,113	0,17289
0,026	0,0516	0,070	0,11650	0,114	0,17412
0,027	0,05315	0,071	0,11787	0,115	0,17535
0,028	0,0548	0,072	0,11924	0,116	0,17658
0,029	0,05635	0,073	0,12061	0,117	0,17781
0,030	0,05780	0,074	0,12198	0,118	0,17904
0,031	0,05933	0,075	0,12335	0,119	0,18027
0,032	0,06086	0,076	0,12472	0,120	0,18150
0,033	0,06239	0,077	0,12609	0,121	0,18269
0,034	0,06392	0,078	0,12746	0,122	0,18388
0,035	0,06545	0,079	0,12883	0,123	0,18507
0,036	0,06698	0,080	0,13020	0,124	0,18626
0,037	0,06851	0,081	0,13154	0,125	0,18745
0,038	0,07004	0,082	0,13288	0,126	0,18864
0,039	0,07157	0,083	0,13422	0,127	0,18983
0,040	0,07310	0,084	0,13556	0,128	0,19102
0,041	0,07468	0,085	0,13690	0,129	0,19221
0,042	0,07606	0,086	0,13824	0,130	0,19340
0,043	0,07754	0,087	0,13958	0,131	0,19455
0,044	0,07902	0,088	0,14092	0,132	0,19570
0,045	0,08030	0,089	0,14226	0,133	0,19685
0,046	0,08198	0,090	0,14360	0,134	0,1980
0,047	0,08346	0,091	0,14490	0,135	0,1992
0,048	0,08494	0,092	0,14620	0,136	0,2003
0,049	0,08642	0,093	0,14750	0,137	0,20145
0,050	0,08790	0,094	0,14880	0,138	0,20260
0,051	0,08835	0,095	0,15010	0,139	0,20375
0,052	0,09080	0,096	0,15140	0,140	0,20490
0,053	0,09225	0,097	0,15270		

Bemerkung: In der ursprünglichen Ellettschen Tabelle stehen zwei Rechenfehler, nämlich 28 mg Phlorogluzid = 0,0537 mg Rhamnose und 29 mg = 0,05525 mg Rhamnose.

Mayersche Tabelle zur Bestimmung der Fukose aus dem erhaltenen Methylfurfurolphlorogluzid nebst einem Teil der **Ellett**schen Tabelle.

Methyl-phlorogluzid	Fukose	Fukosan (col. 2 × 0,89)	Rhamnose nach Ellett und Tollens	Rhamnosan (col. 4 × 0,8)	Methylpentosan Mittel aus col. 3 und 5
1	2	3	4	5	6
0,010	0,0260	0,0231	0,0266	0,0213	0,0222
0,011	0,0284	0,0253	0,0279	0,0223	0,0238
0,012	0,0307	0,0274	0,0295	0,0236	0,0255
0,013	0,0331	0,0295	0,0311	0,0249	0,0272
0,014	0,0354	0,0315	0,0327	0,0262	0,0288
0,015	0,0377	0,0336	0,0343	0,0274	0,0305
0,016	0,0400	0,0356	0,0359	0,0287	0,0321
0,017	0,0423	0,0376	0,0375	0,0300	0,0338
0,018	0,0445	0,0396	0,0391	0,0313	0,0354
0,019	0,0467	0,0416	0,0407	0,0326	0,0371
0,020	0,0489	0,0435	0,0423	0,0338	0,0386
0,021	0,0510	0,0454	0,0438	0,0350	0,0402
0,022	0,0532	0,0473	0,0454	0,0363	0,0418
0,023	0,0553	0,0492	0,0469	0,0375	0,0433
0,024	0,0574	0,0511	0,0485	0,0388	0,0449
0,025	0,0594	0,0529	0,0500	0,0400	0,0462
0,026	0,0614	0,0547	0,0516	0,0413	0,0480
0,027	0,0634	0,0565	0,0531	0,0425	0,0495
0,028	0,0654	0,0583	0,0547	0,0438	0,0510
0,029	0,0674	0,0600	0,0562	0,0450	0,0525
0,030	0,0693	0,0617	0,0578	0,0462	0,0539
0,031	0,0712	0,0634	0,0593	0,0474	0,0554
0,032	0,0731	0,0651	0,0609	0,0487	0,0569
0,033	0,0750	0,0668	0,0624	0,0499	0,0584
0,034	0,0768	0,0684	0,0639	0,0511	0,0598
0,035	0,0786	0,0700	0,0655	0,0524	0,0612
0,036	0,0804	0,0716	0,0670	0,0536	0,0626
0,037	0,0822	0,0732	0,0685	0,0548	0,0640
0,038	0,0839	0,0747	0,0700	0,0560	0,0654
0,039	0,0857	0,0764	0,0716	0,0573	0,0668
0,040	0,0874	0,0778	0,0731	0,0585	0,0681
0,041	0,0890	0,0792	0,0747	0,0598	0,0695
0,042	0,0907	0,0807	0,0761	0,0609	0,0708
0,043	0,0923	0,0821	0,0775	0,0620	0,0721
0,044	0,0939	0,0836	0,0790	0,0632	0,0734
0,045	0,0954	0,0850	0,0803	0,0644	0,0747
0,046	0,0970	0,0863	0,0820	0,0656	0,0759
0,047	0,0985	0,0877	0,0835	0,0668	0,0772
0,048	0,1000	0,0890	0,0849	0,0679	0,0785
0,049	0,1015	0,0903	0,0864	0,0691	0,0797
0,050	0,1029	0,0916	0,0879	0,0703	0,0809

Kapitel IV
(Hexosen)

A. Qualitativer Teil

Nachweis von Hexosen

a) Durch Vergärung

Die „Gärproben“ sind mit den Monosacchariden für sich oder mit den aus Glukosiden oder Polysacchariden durch Hydrolyse oder auf andere Weise erhaltenen Monosacchariden (genügend vorbereitet; Entfernung von Säure, Eindampfen usw.) anzustellen.

Zwecks Untersuchung von Hexosen in einem Saccharidgemisch, sei es in fester Form oder als eine sirupöse Masse vorliegend, kann die Eigenschaft benutzt werden, daß von den hier in Betracht kommenden Monosacchariden nur die Hexosen von Saccharomyces cerevisiae und ebenso von anderen Hefen vergoren werden, Pentosen und Methylpentosen aber nicht, jedenfalls nicht unter den Bedingungen, welche hier weiter erörtert werden.

Unter den Hexosen nimmt aber die Galaktose einen besonderen Platz ein dadurch, daß sie sehr viel schwerer als die anderen Hexosen — d-Glukose, d-Mannose und d-Fruktose — von gewöhnlicher Preßhefe vergoren wird. Dadurch ist es möglich, die d-Galaktose bei der Gärung praktisch vollkommen intakt zu erhalten, wenn nämlich die Gärung mit kleinen Mengen Saccharid nur 2—3 Stunden dauert; in dieser Zeit werden dann die drei genannten Hexosen völlig vergoren (bei 35°).

Diese kurze Gärung bringt also nicht nur den Vorteil mit sich, daß wir nach Beendigung in 2—3 Stunden noch imstande sind, die Galaktose nachzuweisen, sondern wir brauchen nicht unter vollkommen sterilen Bedingungen zu arbeiten, was wohl der Fall sein würde, wenn die Gärung während einigen Tagen fortgesetzt werden müßte.

1. Gärversuche im Einhornschen Apparate, wenn die 4 obengenannten Hexosen, Pentosen (inkl. d-Glukuron- und d-Galakturonsäure und Aldehydschleimsäure) und Methylpentosen vorliegen

Ausführung und Apparat:

Von den Apparaten für qualitative Gärversuche ist das Schröttersche (auch Einhornsches genannt, nach der von ihm angebrachten, sonst geringen Wert besitzenden Skalenteilung) Gärungsröhrchen am meisten in Gebrauch gekommen.

Das Röhrchen (Fig. 5) wird mit Wasser, in welchem das zu untersuchende Saccharid gelöst und die Hefe verteilt ist, in der Weise gefüllt, daß das geschlossene Bein ganz und das offene bis a gefüllt ist. Die Gärung findet bei ungefähr 35° C während 2—3 Stunden statt. Die zuerst sich entwickelnde Kohlensäure löst sich in dem Wasser und wird weiter nach Absättigung oben im geschlossenen Bein sichtbar. Durch die Löslichkeit in Wasser, durch das Herunterdrücken der Flüssigkeit und durch die Diffusion nach außen besitzt das Röhrchen eine beschränkte Empfindlichkeit, ist aber immerhin für qualitative Zwecke sehr wohl brauchbar; 10 mg d-Glukose können in dieser Weise noch leicht nachgewiesen werden.

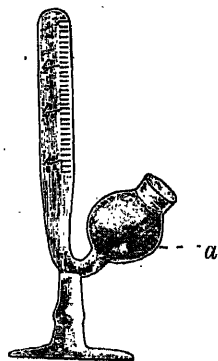



Fig. 5
Einhornsches Gärungsröhrchen

Als Hefe wird die Preß- oder Bäckerhefe benutzt, welche also bei ungefähr 32° C in 3 Stunden nur d-Glukose, d-Fruktose und d-Mannose vergärt, die Pentosen, Methylpentosen völlig, die d-Galaktose praktisch völlig intakt läßt.

Weil die Preßhefe oft Spuren Glykogen enthält, welches bei der Gärung CO_2 entwickelt, muß die Hefe davon befreit werden. Das geschieht durch wiederholtes Mischen der Hefe mit Wasser, Absetzenlassen und Abgießen der Flüssigkeit.

Besser verfährt man, den Versuch dreifach anzustellen: 1 Röhrchen mit Hefe und Wasser, um zu sehen, ob sich CO_2 entwickelt; 1 Röhrchen mit derselben Menge Hefe und Wasser nebst 10—20 mg d-Glukose, um zu sehen, ob die Hefe wirksam ist; 1 Röhrchen mit derselben Menge Hefe und Wasser nebst 10—20 mg des zu untersuchenden Saccharids. Aus diesen 3 Versuchen ist leicht ein Schluß zu ziehen.

Mehr als 50 mg Hexose brauchen nicht in Reaktion gesetzt zu werden, weil diese schon soviel CO_2 entwickeln, daß das geschlossene Bein ganz damit angefüllt ist.

Die Menge der anzuwendenden Hefe soll das Doppelte der Saccharidmenge sein.

Eine positive Gärung deutet also auf d-Glukose, d-Mannose oder d-Fruktose oder auf ein Gemisch derselben hin.

2. Vergärung der d-Galaktose in der Flüssigkeit, in welcher die d-Glukose, d-Mannose und d-Fruktose, wie oben angegeben, vergoren sind

Die ausgegorene Flüssigkeit wird aus dem Röhrchen in ein Schälchen gegossen und mit einer Laktosehefe[1]), welche imstande ist, die d-Galaktose in Gärung zu versetzen, geimpft. Nach Hinzufügen dieser Hefe wird ein Schröttersches Gärröhrchen mit der Flüssigkeit wie oben angefüllt und bei ungefähr 35° C sich selbst überlassen. Tritt in einigen Stunden Gärung ein, so ist das als ein starker Hinweis auf d-Galaktose zu betrachten. Längere Zeit gären zu lassen, ist nicht gut, weil hier nicht steril gearbeitet wird. Dadurch ist der Galaktosenachweis hier sehr schwach und ist es besser, sofort zum quant. Teil B dieses Kapitels zu schreiten.

In der Flüssigkeit bleiben alsdann die Pentosen und die Methylpentosen.

Ist bei beiden Gärversuchen keine Gärung eingetreten, so ist die Flüssigkeit noch für den Nachweis von Pentosen, Säuren und Methylpentosen geeignet; dazu werden die Hefezellen abfiltriert und ausgewaschen. Das Filtrat wird eingedampft, in Alkohol 90%, aufgenommen, filtriert und der Alkohol verdunstet. Mit dem erhaltenen Rückstande können dann die spektralanalytischen Pentosen- und Methylpentosenreaktionen ausgeführt werden, damit auch hier vorläufige Ergebnisse erhalten oder bestätigt werden können.

b) Ketosenreaktionen

Für den Nachweis von Ketosen im allgemeinen, auch neben Aldosen, sind einige Reaktionen eingeführt worden, welche sich auf die größere Geschwindigkeit, mit welcher die Ketosen angegriffen werden, gründen. Sie haben also einen relativen Wert und eine beschränkte Empfindlichkeit.

---

[1]) Siehe B, Quant. Teil dieses Kapitels.

Kolthoff[1]) hat mehrere dieser Reaktionen in bezug auf ihre praktische Brauchbarkeit geprüft.

Einige Reaktionen mögen hier erörtert werden:

Reaktion nach Pieraerts[2])

P. benutzt eine etwas abgeänderte Ostsche Lösung, nämlich eine Lösung von 15 g Kupfersulfat, 140 g Kaliumkarbonat und 100 g Kaliumbikarbonat auf 1 l.

P. gibt noch 2 Reagenzien an, welche nach ihm besser sind, nämlich:

15 g Kupferhydroxyd werden bei 60°—70° mit einer Lösung von 100 g Kaliumkarbonat und a) 50 g Kaliumbikarbonat in ungefähr 800 ccm Wasser geschüttelt. Nach Filtration wird auf 1 l aufgefüllt.

Nach P. werden Pentosen langsam angegriffen, indem d-Fruktose in 3 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur Cupro-oxyd ausscheidet.

b) 12 g Glykokoll, 6 g Kupferhydroxyd und 50 g Kaliumkarbonat werden in 1 l gelöst. P. gibt an, daß nur Fruktose innerhalb 12 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur reduziert wird. Kein anderes Saccharid verhält sich also.

Kolthoff (a. a. O.) erhielt eine Empfindlichkeitsgrenze bei 1 ccm 1/2% Fruktose, also 5 mg. Neben Glukose und Laktose in 12 Stunden war 2,5% Fruktose nachweisbar, eine geringere Menge nicht mehr. Auch bei etwas höherer Temperatur wurde die Reaktion wahrgenommen.

Ausführung der Reaktion:

10 ccm Reagens werden bei gewöhnlicher Temperatur während 1 1/2 Stunde oder bei Abwesenheit von Pentosen während 1 Stunde bei 35° auf 1 ccm der Saccharidlösung einwirken gelassen.

Prüfung der Reaktion:

Von mir wurde das erste Reagens ($CuSO_4$) benutzt.

In mehreren Reagenzröhren wurden 25 mg jedes Saccharids in Reaktion gesetzt, nämlich d-Fruktose, l-Arabinose, Xylose, Rhamnose, d-Glukose, d-Mannose und d-Galaktose.

---

[1]) I. M. Kolthoff. De reduceerende werking der suikers. Chem. W. 13, 887—895 (1916).

[2]) Siehe Chem. W. 13, 887—895 (1916).

Nach 2 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur war auf dem Boden des Fruktoserohres eine geringe Menge Kupferoxydul zu beobachten; bei den anderen nicht. Nach 24 Stunden war die Reaktion bei Fruktose ziemlich stark, bei Arabinose und Xylose schwach, bei den übrigen war kein Oxydul zu sehen.

Die Reaktion soll ohne Umschütteln beobachtet werden und zwar nur der Boden des Rohres.

Es ist klar, daß die Reaktion nach 2 Stunden wahrgenommen werden muß; sie ist dann charakteristisch für Ketosen. Nach 24 Stunden ist sie das ebenso für Pentosen, nicht für Methylpentosen und die übrigen.

Schlußfolgerung:

Sehr gute Reaktion auf Ketosen neben Aldosen. Vorsicht, wenn Pentosen vorliegen, achthaben auf die Anwesenheit von d-Glukuron- und d-Galakturonsäure, welche noch schneller reduzieren wie Fruktose.

Reaktion nach Stanley-Benedict

Das Reagens (siehe Kolthoff a. a. O.) besteht aus 17,3 g Kupfersulfat, 115 g Zitronensäure und 500 g Natriumkarbonat zu 1 l, mit Wasser.

Kolthoff (a. a. O.) untersuchte ihre Empfindlichkeit bei gewöhnlicher Temperatur und bei 37°—40°; er gab folgende Arbeitsweise: „75—100 mg Saccharid werden mit 5 ccm Reagens während ½ Stunde in einem Wasserbade auf 37°—40° erhitzt."

K. konnte 1% Fruktose noch nachweisen neben d-Glukose und Laktose. ½% war zweifelhaft. Glukose, Laktose, Mannose, Galaktose, Maltose und Arabinose wirkten nicht reduzierend.

Prüfung der Reaktion:

Ebenso wie bei der Pieraertsschen Reaktion wurde die d-Glukuronsäure mit bei der Prüfung berücksichtigt.

Es wurde nicht von 75—100 mg, sondern von 25 mg Monosaccharid ausgegangen.

Wurden 25 mg d-Fruktose mit 25 mg Rhamnose, 25 mg d-Glukose, 25 mg d-Mannose und 25 mg d-Galaktose gemischt und bei gewöhnlicher Temperatur untersucht, so war in einigen Stunden eine geringe Menge Kupferoxydul am Boden des Rohres zu beobachten.

Ebenso fiel unter denselben Verhältnissen mit 10 mg Fruktose die Reaktion noch positiv aus, während der Versuch ohne Fruktose negativ verlief.

10 mg d-Fruktose + 50 mg Xylose + 25 mg Arabinose wurden wie oben in Reaktion gebracht. Nach einigen Stunden war wenig Oxydul zu sehen; im Versuch ohne Fruktose nichts; indessen nach noch weiteren zwei Stunden eine geringe Reduktion.

In der Meinung, daß mit dem Pieraertsschen Reagens deutlichere Unterschiede in bezug auf d-Fruktose—d-Glukuronsäure als mit Fehlingscher Lösung (siehe Seite 22) erhalten werden können, wurden 20 mg d-Glukuron bei gewöhnlicher Temperatur mit 5 ccm Pieraertsschem Reagens ($CuSO_4$) behandelt und in einem anderen Reagenzrohr 20 mg d-Fruktose in derselben Weise. In 1/2 Stunde trat bei d-Glukuron Reduktion ein, bei Fruktose noch nicht. Nach etwa 1 Stunde reduzierte auch Fruktose.

Die Pieraertssche Reaktion gibt also bei weitem nicht so einen auffallenden Unterschied zwischen d-Glukuron- und d-Galakturonsäure einerseits und d-Fruktose andererseits, wie Fehlingsche Lösung, die bei gewöhnlicher Temperatur von der d-Glukuronsäure fast augenblicklich reduziert wird.

Kleine Kölbchen, jedes mit 25 mg der Saccharide versehen, wurden neben dem St.-B.schen Reagens in einem Wasserschrank (mit Thermoregulator) auf 37°—40° gebracht; dann wurden von dem Reagens 5 ccm in jedes Kölbchen gegeben, die Saccharide darin gelöst und während 1/2 Stunde im Schrank hingestellt.

Bei l-Arabinose, Xylose, Fukose, Rhamnose, d-Glukose, d-Mannose und bei d-Galaktose war keine Reduktion zu sehen; beim Versuch mit Fruktose und mit d-Glukuronsäure war Kupferoxydul entstanden.

Nach einer weiteren halben Stunde bei 37°—40°, also 1 Stunde im ganzen, nur bei Fruktose und bei Glukuronsäure eine Reduktion und zwar eine ziemlich starke, bei den übrigen nichts.

Wurden 25 mg Fruktose mit 7 × 25 mg der obengenannten Monosaccharide gemischt und wie oben behandelt, so war in 1/2 Stunde eine ziemlich starke Reduktion eingetreten. In demselben Versuch ohne Fruktose war in 1/2 Stunde eine sehr schwache Reduktion eingetreten.

Schlußfolgerung:

Die Reaktion steht etwas gegen die Pieraertssche Reaktion zurück, wenn alle 8 Monosaccharide nebeneinander vorkommen. Immerhin ist sie eine sehr gute Reaktion, Ketosen nachzuweisen, wenn mit einiger Vorsicht vorge-

gangen wird. Indessen hat die d-Glukuronsäure und wohl auch die d-Galakturonsäure die schnellere Reduktion der d-Fruktose mit dieser gemeinsam. Ebenso wie bei der Pieraertsschen Reaktion ist die Stanley-Benedictsche also nicht ausschließlich eine Ketosenreaktion, sondern ebenso eine auf obengenannte Aldehydsäuren.

Reaktion nach Plaisance

Plaisance[1]) erhitzt das Saccharid mit 12% Salzsäure; das entstandene (Hydr.) oxymethylfurfurol gibt mit Thiobarbitursäure einen orangefarbenen Niederschlag. Nach Pl. wird die Reaktion nicht von Pentosen, schwach von Aldohexosen und stark von Ketohexosen gegeben.

Weil mir keine Thiobarbitursäure zur Verfügung stand, gebe ich hier die Plaisancesche Arbeitsweise ohne weiteres wieder:

„Die zu untersuchende Substanz wird mit 12% Salzsäure zum Sieden erhitzt, in Wasser abgekühlt und einige Tropfen einer Lösung von Thiobarbitursäure in 12%iger Salzsäure hinzugegeben."

Liegt eine Ketohexose vor, so entsteht allmählich ein orangefarbener Niederschlag. Ist nur eine Aldose anwesend, so entsteht nur eine gelbe Farbe, kein Niederschlag.

c) Farbenreaktionen auf Aldo- und Ketohexosen

Zu den Farbreaktionen wollen wir nur diejenigen rechnen, bei welchen eine bestimmte Färbung nur für direkte Beobachtung benutzt wird, ohne spektralanalytische Untersuchung.

Da im allgemeinen die „Farbreaktionen" einen sehr relativen Wert besitzen, weil ihr Chemismus manchmal unbekannt ist und sie dennoch meistenfalls nur bei reinen Substanzen mit gutem Erfolge anzuwenden sind, haben sie für den Saccharidennachweis in vielen Fällen noch weniger Wert, weil, besonders bei phytochemischer Forschung, öfter Gemische mehr oder weniger verunreinigter Saccharide vorliegen; überdies sind die Unterschiede im Hervorrufen von „Farbreaktionen" durch die Strukturverwandtschaft der Monosaccharide nur relativ.

Es geht jedoch nicht an, alle Farbreaktionen wertlos zu nennen; es gibt mehrere Reaktionen, deren Chemismus aufgeklärt worden ist und welche bei positivem Verlauf eine Vermutung auf

[1]) G. P. Plaisance. Thiobarbituric acid as a qualitative reagent for keto-hexose. J. Bio. **29**, 207—208 (1916—1917).

eine bestimmte „Saccharidgruppe" gestatten, m. a. W., es gibt Farbreaktionen, die sehr gut zu verwerten sind, wenn man ihr keinen größeren oder geringeren Wert beilegt, als sie besitzen. Es ist daher erforderlich, ausführlicher bei diesen „Farbreaktionen" zu verweilen, um ihren Wert für den Nachweis der Monosaccharide deuten zu können.

Die allgemeinen Reaktionen auf die reduzierenden Saccharide, wie die Molisch-Udranskysche mit α-Naphtol und Schwefelsäure, die Trommersche mit Kupfersulfat und Natriumhydroxyd, die Fehlingsche mit der Fehlingschen Flüssigkeit, die Barfoedsche mit Kupferazetat, die Sachssesche mit alkalischem Quecksilber-Kaliumjodid, die Knappsche mit alkalischer Zyanquecksilberlösung, die Nylandersche mit Bismutlösungen und vielleicht noch andere können wir hier umgehen, weil sie keinen brauchbaren Unterschied zwischen den Monosacchariden aufweisen; die meisten sind ja in größeren oder kleineren Werken aufgenommen (siehe ebenso: Fleig. Journal de Pharm. et de Chimie. Sér. 6. 28, 285 [1908]).

I. Ketosenfarbreaktionen

Die wichtigsten Farbreaktionen sind: die Pinoffschen[1], die Seliwanoffsche[2] und die Ihl-Pechmannsche[3].

Reaktionen nach Pinoff

Pinoff (a. a. O.) hat 6 Reaktionen zur Unterscheidung von Aldosen, Ketosen und Disacchariden gegeben, deren eine eine Abänderung der Seliwanoffschen und deren andere eine Abänderung der Molischschen Reaktion ist.

Diese Reaktionen sind von N. Schoorl und Van Kalmthout[4]) nicht günstig beurteilt; an erster Stelle, weil die Autoren die Unterscheidungsmerkmale nicht so überzeugend erachten wie Pinoff angibt, zweitens, weil sie die Reaktionen weniger geeignet finden, Fruktose neben den Disacchariden nachzuweisen.

Weil es sich hier nur um die Monosaccharide handelt, kommt das letzte Bedenken hier nicht in Betracht.

Reaktion 1

Ausführung: 50 mg der Saccharide werden mit 10 ccm Alkohol-Schwefelsäure (75 ccm + 20 ccm) und 0,2 ccm alkoholischer

---

[1]) E. Pinoff. Über einige Farben- und Spektralreaktionen der wichtigsten Zuckerarten. Ber. 38, 3308 (1905).

[2]) Th. Seliwanoff. Notiz über eine Fruchtzuckerreaktion. Ber. 20, 181 (1887).

[3]) A. Ihl. Über die Einwirkung von Diphenylamin auf Kohlenhydrate bei Gegenwart von Alkohol, Schwefelsäure oder Salzsäure. Chem. Ztg. 9, 451 (1885).

[4]) N. Schoorl und P. C. J. Kalmthout. Über einige Farbreaktionen der wichtigsten Zuckerarten. Ber. 39, 280 (1906).

α-Naphtollösung (5 g in 100 ccm 96⁰/₀igem Alkohol) im Wasserbade auf 95⁰—98⁰ erhitzt.

Prüfung der Reaktion:

Pinoff (a. a. O.) schreibt, daß bei Fruktose, Sorbose, Rohrzucker und Raffinose (welche Fruktose abspalten) in 1 Minute Violettfärbung auftritt und bei spektroskopischer Untersuchung 2 Absorptionsbanden im Grün auftreten, während die anderen Saccharide (außer Arabinose, welche nur eine schmutziggrüne Farbe und kein Band erzeugt) erst nach 20—35 Minuten eine schwachviolette Färbung geben und nur 1 Band in der Mitte des Grüns.

Pinoff sagt dabei, er habe nicht auf die Farbe acht gegeben, sondern erhitzt, bis ein oder zwei Banden auftraten.

Schoorl und van Kalmthout (a. a. O.), die nur die Farbe beobachteten, fanden, daß nur die Fruktose in 1 Minute Violettfärbung erzeugt, die anderen (sie verglichen Glukose, Laevulose, Rohr- und Milchzucker) in 15 Minuten.

Ich fand dies vollkommen bestätigt, doch erwähne, daß es unnötig, ja sehr unerwünscht ist, die Einwirkung so lange fortdauern zu lassen. Wo es sich hier um ein Unterscheidungsmerkmal handelt, ist es notwendig, den richtigen Moment wahrzunehmen und nicht so lange zu erhitzen, bis auch die anderen Saccharide eine Violettfärbung erzeugen. Überdies entstehen hier bei längerem Erhitzen mit Schwefelsäure mehr Nebenreaktionen, durch welche selbst die schöne violette Farbe bei der Fruktose in schmutzigpurpur übergeht.

Wenn die Reaktion nach höchstens 3 Minuten, nach welchen das Reagenzrohr in das siedende Wasserbad gebracht wird, beobachtet wird, ist die violette Farbe für Ketosen charakteristisch.

Bei d-Glukose, d-Mannose, d-Galaktose, l-Arabinose, Xylose, Rhamnose war nach 3 Minuten keine Verfärbung aufgetreten, bei Fruktose eine schön violette.

Und nicht nur, daß diese Reaktion (Abänderung der Molischschen) charakteristisch für Ketosen als einfache Substanz ist, ist sie das auch, wenn 10 mg Fruktose in einer Mischung aus 6 × 25 mg der genannten Zucker vorkommen. Die Lösung wurde dabei schwach violett, während bei demselben Versuch ohne Fruktose in 1 Minute nichts wahrzunehmen war. Nach 2 Minuten noch nichts, bei der Fruktoseprobe schön violett. Nach 3 Minuten, oben durch die

Flüssigkeit gesehen, kaum wahrnehmbar violett; bei der Fruktoseprobe schön violett.

Es ist also selbstverständlich, daß spätestens nach 3 Minuten beobachtet werden muß.

Gleichfalls ist die Reaktion eine sehr empfindliche, weil 3 mg Fruktose in einem Gemische aus 6 × 50 mg der obengenannten Monosaccharide in 2, höchstens 3 Minuten nachzuweisen sind. Spektroskopische Untersuchung wurde unterlassen, weil Beobachtung mit bloßem Auge genügt.

Schlußbemerkung:

Diese Reaktion ist sehr empfehlenswert; bei stark positivem Verlauf gestattet sie eine Vermutung auf die Gegenwart einer Ketose. Ihr Wert bleibt also innerhalb der Brauchbarkeitsgrenze einer Farbreaktion.

Indessen verringert sich ihre Empfindlichkeit sehr, wenn unreine Saccharide vorliegen.

Reaktion 2

Dieselbe Reaktion, jedoch mit Verdünnung mit 10 ccm 96%igem Alkohol ist der ersten nicht vorzuziehen.

Reaktion 3

Ausführung: 50 mg Saccharid, wie unter 1 mit β-Naphtol statt α-Naphtol behandelt, geben bei Fruktose nach 25 Minuten eine gelbbraune Färbung, bei d-Glukose in 45 Minuten noch nicht.

Prüfung der Reaktion:

Schoorl und van Kalmthout (a. a. O.) erhielten nach 20 Minuten eine braungelbe Verfärbung bei Fruktose, bei Glukose erst in 30 Minuten.

Wenn die Reaktion so lange Zeit dauerte, bevor selbst bei Fruktose eine braungelbe Farbe auftrat, so würde die Reaktion deshalb schon verwerflich sein, weil zu viel Nebenreaktionen auftreten würden.

Bei 50 mg Fruktose wurden in 1 Minute eine schwach gelb gefärbte Lösung, in 2 Minuten eine braungelbe, in 3 Minuten eine etwas stärker braune erhalten. In 3 Minuten gab Glukose noch keine Färbung.

Obschon die Reaktion in 3 Minuten einen vollkommenen Unterschied zwischen Fruktose und Glukose gibt, ist sie bei unreinen, gelb gefärbten Sacchariden, wie sie oft vorliegen, nicht empfehlenswert, weil diese Farbe für sich verstärkt werden kann.

Reaktion 4

Ausführung: 50 mg Saccharid werden mit 5 ccm des Alkohol-Schwefelsäuregemisches (siehe Reaktion 1), 5 ccm 96%igem Alkohol und 0,2 ccm 5%iger Resorzinlösung im Wasserbade erhitzt.

Betrachtung:

Diese Reaktion besitzt keine Vorteile gegenüber der noch zu behandelnden Seliwanoffschen.

Reaktion 5

Ausführung: 100 mg Saccharid werden mit 5 ccm einer 5%igen Kaliumbichromatlösung und 5 ccm einer 5%igen Chlorammoniumlösung während einer halben Stunde im Wasserbade erhitzt.

Betrachtung:

Nur Ketosen erzeugen einen Niederschlag, Aldosen nicht.

Schoorl und van Kalmthout (a. a. O.) fanden als Nachweisbarkeitsgrenze der Fruktose neben Glukose ungefähr 10%.

Kolthoff (a. a. O.) urteilte nicht günstig.

Der Unterschied zwischen Fruktose und Glukose ist deutlich, weil bei Fruktose ein gelbbrauner Niederschlag auftritt, bei Glukose nicht.

Weil die Reaktion so lange dauern muß, ist sie bei unreinen Zuckergemischen wohl nicht zu empfehlen.

Reaktion 6

Ausführung: 100 mg Saccharid werden mit 10 ccm 4%iger Ammoniummolybdatlösung, 10 ccm Wasser und 0,2 ccm Eisessig im Wasserbade erhitzt.

Betrachtung:

Nach Pinoff (a. a. O.) wird die Lösung bei Fruktose in 3 Minuten blau, bei den anderen erst in 30 Minuten.

Schoorl und van Kalmthout (a. a. O.) bestätigen das, außer bei Glukose, wo bereits in 10 Minuten eine schwachblaue Farbe auftrat.

Kolthoff (a. a. O.) urteilt ungefähr wie Sch. und v. K.

Bei reinen Zuckern ist in 3 Minuten Fruktose von Glukose zu unterscheiden; bei unreinen Gemischen wird das unsicher sein, weil unerwünschte Reduktionen eintreten können, durch welche Blaufärbung auftritt.

Reaktion nach Seliwanoff (a. a. O. und [1]—[4])

Ausführung[5]): Ungefähr 50 mg Saccharid werden mit etwa 10 ccm N-Salzsäure und etwa 10 mg Resorzin während ungefähr $^{1}/_{4}$ Stunde oder kürzer im Reagenzrohr im siedenden Wasserbade erhitzt.

Beschreibung und Prüfung:

Bei Ketosen und Ketosen abspaltenden Substanzen entsteht eine Rotfärbung. Nachdem Düll[6]) eine Abspaltung von Oxy-Methylfurfurol aus d-Fruktose mittels verdünnter Säuren vermutete und dies von Kiermayer[7]) mit Gewißheit nachgewiesen wurde, ist von Alberda van Ekenstein und Blanksma[8]) angegeben worden, daß die Seliwanoffsche Reaktion auf einer Abspaltung von β-Oxy-δ-Methylfurfurol beruht und nachher Middendorp[9]) in Blanksmas Laboratorium die Struktur dieses Furfurols endgültig als ein ω-Oxymethylfurfurol festlegte.

Der relative Wert der Reaktion liegt nun in der Tatsache, daß alle Hexosen das ω-Oxymethylfurfurol abzuspalten imstande sind; die praktische Brauchbarkeit für den Ketosennachweis liegt in der Tatsache, daß unter richtig eingehaltenen Bedingungen die Ketosen eine viel größere Menge des ω-Oxymethylfurfurols als die Aldosen abspalten, während Pentosen bekanntlich Furfurol und Methylpentosen Methylfurfurol abspalten.

---

[1]) H. Rosin. Eine Verschärfung der Seliwanoffschen Reaktion. Z. physiol. Chem. 38, 555 (1903).

[2]) L. Borchardt. Über die diabet. Lävulosurie und den qual. Nachweis der Lävulose im Harn. Ibidem. 55, 241 (1908).

[3]) H. Malfatti. Zur Beurteilung der Seliwanoffschen Lävulosereaktionen im Harn. Ibidem 58, 544 (1908—1909). M. erachtet die Rosinschen und die Borchardtschen Angaben weniger richtig, weil bei dieser Reaktion Glukose in Lävulose übergehen kann.

[4]) H. Königsfeld. Untersuchung über die phys.-chem. Grundlagen der Seliwanoffschen Reaktion. Bio. 38, 310 (1912).

[5]) Nach der Schoorl und van Kalmthoutschen Abänderung des Säuregehaltes. Ber. 39, 283 (1906).

[6]) G. Düll. Über die Einwirkung von Oxalsäure auf Inulin. Chem. Ztg. 19, 216 (1895).

[7]) J. Kiermayer. Über ein Furfurolderivat aus Lävulose. Chem. Ztg. 19, 1003 (1895).

[8]) W. Alb. van Ekenstein und J. J. Blanksma. Over het β-oxy-δ-Methylfurfurol als oorzaak van eenige kleurreacties der Hexosen. Ch. W. 6, 217 (1909).

[9]) J. A. Middendorp. Over het Oxy-Methylfurfurol. Diss. 1917 Leiden.

Nach Kiermayer (a. a. O.) spalten die Ketosen unter bestimmten Bedingungen 20% des Methylfurfurols ab, und nach Alberda van Ekenstein und Blanksma[1]) Glukose und Saccharose nur 1%, Galaktose 1,5%, Mannose 1% unter denselben Bedingungen.

Absolute Sicherheit für den Ketosennachweis neben Aldohexosen gewährt die Seliwanoffsche Reaktion also nicht. Immerhin ist sie imstande, unter günstigen Verhältnissen Gutes zu leisten. Es ist ratsam, zuerst die Reaktion mit den Sacchariden auszuführen, damit man Einsicht in die Reaktion bekommt.

Bei stark positivem Reaktionsverlauf, bei Anwendung von etwa 50 mg Saccharid kann man die mögliche Gegenwart von Ketohexosen im Gedächtnis behalten.

Zum Vergleich wurde die Reaktion mit 50 mg jedes Monosaccharids ausgeführt. Bei d-Glukose, d-Galaktose, d-Mannose, l-Arabinose, Xylose und Rhamnose trat nach 5 Minuten Erhitzens im siedenden Wasserbade keine Verfärbung ein; ebenso nicht nach 10 oder 15 Minuten. Mit 10 mg Fruktose entstand in 5 Minuten eine schwache, aber deutliche Rotfärbung, nach 10 Minuten etwas stärker, nach 15 Minuten eine orangerote.

Wurden nun 5 mg d-Fruktose mit einem Gemisch aus 6 × 50 mg der genannten Monosaccharide wie oben behandelt, so trat in 10 Minuten eine schwache Rotfärbung auf, welche nach 15 Minuten wieder verschwand. Ihre Empfindlichkeit ist also etwas geringer als die Pinoffsche Reaktion 1 mit α-Naphtol (a. a. O.).

Bei unreinen Saccharidgemischen können die Ergebnisse etwas ungünstiger ausfallen; immerhin deutet eine positive Reaktion auf die Gegenwart von Ketosen.

Abänderung der Seliwanoffschen Reaktion nach F. Weehuizen[2])

Ist eine Verschärfung der Reaktion durch Anwendung alkoholischer Salzsäure, statt wässeriger, wodurch ohne Erwärmung binnen 3 Minuten mit Ketosen eine kirschrote Färbung entsteht, wobei niemals die Reaktion zweifelhaft ausfallen wird. Wasser soll stets vermieden werden und also wässerige Lösungen zum Sirup eingedampft werden. Der Sirup oder die kristallinischen

---

[1]) W. Alb. v. Ekenstein und J. J. Blanksma. Over de vorming van Lävulinezuur uit hexosen. Ch. W. 7, 387 (1910). — Siehe auch Middendorp. Diss. S. 114 (a. a. O.)

[2]) F. Weehuizen. Over eene wijziging v. d. reactie v. Seliwanoff. Pharm. W. 55, 831—832 (1918). — Siehe auch Weehuizen, idem. 55, 77—79 (1918).

Zucker werden mit 3—4 ccm gesättigter Salzsäure — absolut alkoholischer Lösung und 50 mg Resorzin gemischt.

$^1/_2\,^0/_0$ Saccharose konnte W. (a. a. O.) noch nachweisen, unter anderem in Milch.

Die alkoholische Salzsäurelösung wird nach W. durch Einleitung von trocknem Salzsäuregas in absoluten Alkohol unter Eiskühlung bis zur Sättigung erhalten.

Die Lösung muß stets frisch bereitet sein und soll beim Anblasen rauchen.

Die Weehuizensche Abänderung ist eine sehr große Verbesserung. Die Reaktion ist nicht nur außerordentlich scharf und spezifisch für Ketosen, sondern sie ist ausschlaggebend auch in den Fällen, wo andere Ketosenreaktionen, auch die Seliwanoffsche zweifelhaft ausfielen. Ich begegnete einem derartigen Fall bei dem Monosaccharidgemisch aus dem Saponin der Fruchtkerne von Pseudophoenix vinifera Beccari, wobei die Pieraertsche Reaktion I, die Stanley-Benedictsche und die Seliwanoffsche Reaktion zweifelhaft ausfielen, indem die Weehuizensche Abänderung einen scharf positiven Erfolg auf Ketosen hatte.

Auch mit den reinen Sacchariden ist die Reaktion überzeugend. Wenige mg Fruktose geben sofort eine deutliche Reaktion, auch in Gemischen mit den Aldosen. Letztere reagieren erst nach einiger Zeit schwach.

Der große Vorteil der Reaktion liegt in dem fast völligen Ausbleiben von Nebenreaktionen, welche sonst beim Erhitzen auftreten.

Die Anstellung dieser Reaktion soll niemals unterlassen werden, weil sie als die weitaus beste Reaktion auf Ketosen oder Ketosen abspaltende Substanzen anzusehen ist.

Reaktion nach Ihl-Pechmann (a. a. O.)

Ausführung nach Jolles[1])

1 ccm Lösung eines Saccharids wird mit 8—10 Tropfen einer $20\,^0/_0$igen Diphenylaminlösung in absolutem Alkohol und 1 ccm konzentrierter Salzsäure während einer Minute gekocht oder besser nach Schoorl[2]) 10 Minuten im siedenden Wasserbade erhitzt. Wenn Ketosen vorliegen, tritt Blaufärbung ein.

---

[1]) A. Jolles. Über den Nachweis der Lävulose im Harn. Ber. Pharm. **19**, 484—486 (1909). — H. T. B. Rasmussen. Über das Verhalten einiger Zuckerarten zu Diphenylamin und Salzsäure. Ber. Pharm. **23**, 379 (1913).

[2]) N. Schoorl. Organische Analyse usw. I.

Beschreibung und Prüfung:

Nach Jolles und Mauthner (a. a. O.) wird bei einer 0,005 %igen Fruktoselösung nach 50—60 Sek. Kochens eine Blaufärbung erhalten, gleichfalls bei 0,25 %igen Dextroselösungen in 70 bis 90 Sek. Auch hier ist nach Alberda van Ekenstein und Blanksma (a. a. O.) diese Reaktion der Abspaltung von Oxymethylfurfurol zuzuschreiben.

Wenn also die Ihl-Pechmannsche Reaktion auf demselben Prinzip, wie die Seliwanoffsche beruht, haben wir jedenfalls dafür Sorge zu tragen, die Bildung des Oxymethylfurfurols bei den Aldosen in engen Grenzen zu halten.

Was den einen Einflußfaktor — die Erhitzungszeit — anbelangt, so hat Jolles (a. a. O.) diesen schon auf 60 Sek. Kochen eingeschränkt. Wenn wir die Ihl-Pechmannsche Reaktion nach Jolles (a. a. O.) mit der von Schoorl (a. a. O.) vorgeschlagenen Erhitzung während 10 Minuten im siedenden Wasserbade ausführen, beobachten wir auch bei d-Glukose, d-Mannose und d-Galaktose nicht starke Blaufärbung, bei Pentosen trübgrün.

Während also die Ihl-Pechmann-Jolles-Schoorlsche Reaktion nur von Hexosen gegeben wird, ist sie für Ketosen nicht so charakteristisch, wie die Pinoffsche 1 und die Seliwanoffsche.

Das ist zum Teil der zu hohen Säurekonzentration zuzuschreiben.

Mit 10 mg Fruktose tritt jedoch eine starke Blaufärbung ein.

Zusammenfassend ist aber die Reaktion wie folgt auszuführen:

„50 mg Saccharid, in 1 ccm Wasser gelöst, werden mit ½ ccm 20%iger alkoholischer Diphenylaminlösung und 1 ccm 25%iger Salzsäure während 5 Minuten (Beobachtung) im siedenden Wasserbade erhitzt und die Erhitzung während weiterer 5 Minuten fortgesetzt (Beobachtung).

Eine starke Blaufärbung weist auf Ketosen hin.

Alles in allem ist von den brauchbaren Farbreaktionen die Ihl-Pechmannsche am wenigsten überzeugend.

Für die Aufklärung des Chemismus der Reaktion siehe [1]).

---

[1]) L. Radlberger. Zur Kenntnis der Diphenylaminreaktion der Lävulose. Durch Chem. Zentralblatt 493 (1915). — J. A. Middendorp. Diss. 1917 Leiden.

2. Aldose-Reaktionen

Aldose-Reaktion nach Berg[1])

Ausführung:

200—300 mg Saccharid oder eine konzentrierte Lösung desselben (Schoorl nimmt mit Recht 20—30 mg) werden mit 10 ccm frisch bereitetem Bromwasser auf 60—70° im Wasserbade erhitzt und dann das Übermaß Brom schnell ausgekocht. Der farblosen Flüssigkeit werden 10 ccm Ferrichloridlösung (100 ccm Lösung enthält 4 Tropfen einer Lösung von 45° Be. [3 g Fe_2Cl_6 12 aq + 1 g Wasser] und 2 Tropfen Salzsäure [35—36%]) zugegeben.

Beschreibung und Prüfung:

Bei Aldosen tritt eine starkgelbe Farbe auf. Berg (a. a. O.) gibt an, die Zucker sollen rein sein; weiter, Fruktose und Sorbose geben keine Verfärbungen, Arabinose, Xylose, Glukose, Galaktose eine gelbe Verfärbung. Ebenso wie Schoorl und van Kalmthout (a. a. O.) wurde es mir klar, daß bei Aufwand von 20—30 mg Fruktose eine sehr geringe Gelbfärbung auftritt, bei Glukose am stärksten.

Wenn also eine starke Gelbfärbung auftritt (20—30 mg), so sind Aldosen im Gedächtnis zu behalten.

Wert der Farbenreaktionen und Schlußfolgerung:

Den positiv ausfallenden Farbreaktionen lege man nicht mehr Wert bei, wie einer vorläufigen Orientierung über die An- oder Abwesenheit bestimmter Saccharidgruppen (Aldosen oder Ketosen).

Ist z. B. bei phytochemischer Forschung zu wenig Substanz vorhanden, oder ist im voraus das Mißlingen dieser Reaktion der ungenügenden Reinheit wegen sehr wahrscheinlich zu erachten, so führe man die Reaktion nicht aus. Anderenfalls wende man als „Vorproben" mit 50 mg oder weniger der durch Hydrolyse erhaltenen und genügend vorbereiteten Monosaccharide die erste Pinoffsche, die Seliwanoff-Weehuizensche und nötigenfalls die Ihl-Pechmannsche mit der Jollesschen Abänderung auf Ketosen und die Bergsche auf Aldosen an.

---

[1]) A. Berg. Sur une réaction des sucres à fonction aldéhyde. Bull. [3] **31**, 1216 (1904).

d) Die Zuckersäurereaktion auf d-Glukose und d-Glukuronsäure

Diese von Gans und Tollens[1]) stammende Reaktion, welche sich auf die Bildung von Zuckersäure durch Oxydierung mittels verdünnter Salpetersäure gründet, ist für d-Glukose und d-Glukuronsäure charakteristisch. Sie ist das ebenso für die hier nicht in Betracht kommenden Gulosen.

In mehreren Handbüchern wird angegeben, daß 5 g der Substanz mit Salpetersäure (1,15) in einem Wasserbade zur Trockenheit eingedampft werden sollen.

Bei der Ausführung der Reaktion in dieser Weise wurde mir klar, daß die Ausbeute an Zuckersäure stark verringert, während gleichzeitig eine gelbe bis braune Farbe auftritt. Es ist daher besser, zu einem dünnen Sirup einzudampfen, dabei fortwährend mit einem Glasstabe umrührend. Um die Salpetersäure ganz oder fast ganz zu vertreiben, wird einige Male Wasser zugegeben und wieder eingedampft; so fortfahrend kann schließlich zu einem dickeren Sirup eingedampft werden. Die Oxydierung mit Salpetersäure muß mit viel Sorgfalt geschehen. Bisweilen wird angegeben, mit der 3fachen Menge, ein anderes Mal mit der 5fachen Menge Salpetersäure einzudampfen. Es hat gar kein Bedenken, mit der 12fachen Menge Salpetersäure, wie unter e) für die Schleimsäurereaktion angegeben, einzudampfen. Das ist von Vorteil, weil die Zuckersäure- und die Schleimsäurereaktion in einem Versuch ausgeführt werden können.

Man braucht nicht immer von 5 g Substanz auszugehen; weil es sich hier um einen Nachweis handelt, kann in vielen Fällen von viel weniger Substanz ausgegangen werden und ist das bei wenig zur Verfügung stehender Substanz eine notwendige Bedingung.

Die Gans-Tollenssche Reaktion werde in folgender Weise ausgeführt:

„5 g oder weniger des Mono- oder Polysaccharids werden in einem Becherglase im siedenden Wasserbade mit der 12fachen Menge Salpetersäure (spez. Gew. 1,15) zu einem dünnen Sirup (ungefähr 1 ccm) eingedampft. Nach Verdünnung mit Wasser wird zu ca. 1 ccm eingedampft und das noch zweimal wiederholt; schließlich wird in einem Porzellanschälchen unter fortwährendem

---

[1]) R. Gans, Diss. Göttingen 1888. — R. Gans und B. Tollens. Lieb. Ann. **249**, 219 (1888). — R. Gans, W. E. Stone und B. Tollens. Über Zuckersäurebildung usw. Ber. **21**, 2148 (1888).

Umrühren zur Sirupdicke eingedampft. Nachdem es eine Nacht gestanden hat, wird, wenn nötig, abgesaugt und mit wenig Wasser ausgewaschen. Nach Eindampfen zur Sirupdicke wird mit Kaliumkarbonat neutralisiert, wenn nötig filtriert, mit Essigsäure angesäuert, nötigenfalls wieder etwas konzentriert. Nach abermals einer Nacht wird das gebildete saure zuckersaure Kalium auf einem kleinen gewöhnlichen Filter durch Pressen zwischen Filtrierpapier von dem Rest der Mutterlauge so viel wie möglich befreit, dann mit wenig Wasser betüpfelt und zwischen Filtrierpapier gepreßt. Dann werden die Kristalle zweimal aus wenig heißem Wasser umkristallisiert, in Wasser gebracht, mit Ammoniak neutralisiert und die Zuckersäure mit einer 1 %igen Silbernitratlösung unter Umrühren niedergeschlagen. Das neutrale Silbersalz wird auf einem Saugfilterchen mit Wasser gewaschen und dann über Schwefelsäure im Dunkeln völlig getrocknet. In dem Silbersalz wird durch einfache Verbrennung eine Silberbestimmung gemacht, wobei das gewogene Silber 50,86 % des Gewichtes des zuckersauren Silbers betragen soll.

Betrachtung über die Reaktion:

Obwohl der Identifikationswert hauptsächlich durch die Silberbestimmung bestimmt wird, ist auch die Kristallform des sauren zuckersauren Kaliums charakteristisch. Es sind dicke, nadelförmige Kristalle mit Trapezflächen (Fig. 6 und 7 S. 102).

Nicht immer ist das Auftreten von Kristallen ein Beweis für die Gegenwart von saurem zuckersaurem Kalium; es ist daher erwünscht, vor der Silberbestimmung mikroskopisch zu beobachten.

Wenn gegebenenfalls viel d-Glukose anwesend war, ist es nötig, etwas weniger weit mit Salpetersäure einzudampfen. Das ist nicht für alle Fälle genau im voraus anzugeben. Man tut gut, sich mit d-Glukose selbst etwas einzuüben.

Bei dieser Reaktion müssen wir im Auge behalten, daß sie zu gleicher Zeit dem Nachweis von d-Galaktose durch Schleimsäurebildung während der Oxydation oder nach Einengung in 24 Stunden auskristallisierend, dienlich ist (siehe bei e). Die abgeschiedene Schleimsäure wird dann vor der Neutralisierung mit Kaliumkarbonat gesammelt usw.

Prüfung der Reaktion:

Die Reaktion ist nicht mit so wenig Substanz wie bei der Schleimsäurereaktion auszuführen. Aus 100 mg d-Glukose konnten

zwar Kristalle des sauren zuckersauren Kaliums abgeschieden werden, die Menge desselben war jedoch nach Umkristallisierung zu gering, um bei einer Bestimmung eine genügende Menge Silbersalz zu geben.

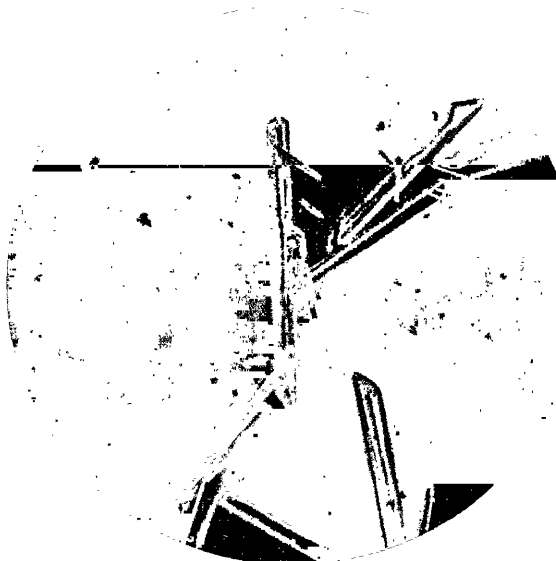



Fig. 6
Saures zuckersaures Kalium. 60 mal vergrößert

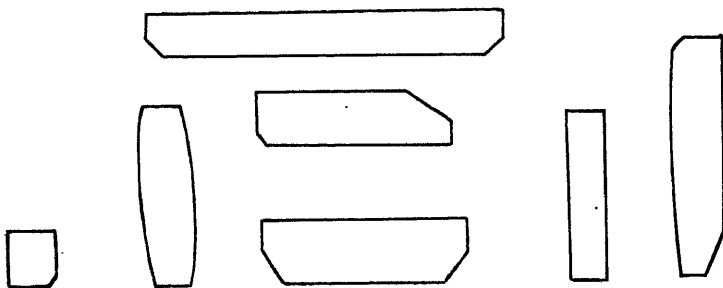



Fig. 7.
Etwas schematisierte Darstellung des sauren zuckersauren Kaliums

Weil die Kristallisation des sauren zuckersauren Kaliums noch teilweise durch die Gegenwart von Oxydationsprodukten anderer Zucker verzögert wird, ist für die Reaktion $^1/_2$ g d-Glukose

erforderlich oder eine Menge eines d-Glukose haltenden Gemisches, die mit 500 mg d-Glukose übereinstimmt.

So ergab ein Gemisch aus 100 mg d-Glukose, 100 mg d-Fruktose, 100 mg d-Mannose, 100 mg l-Arabinose, 100 mg Xylose und 100 mg Rhamnose bestehend, eine geringe Menge sauren zuckersauren Kaliums, konnte jedoch für weitere Identifizierung nicht dienen.

250 mg d-Glukose + 350 mg d-Fruktose + 100 mg d-Mannose + 200 mg Xylose ergaben noch zu wenig Silbersalz.

Darum ist es erwünscht, $^1/_2$ g d-Glukose in Reaktion zu nehmen, besser 1 g.

Bemerkung:

Wie gesagt, wird die Reaktion auch von der d-Glukuronsäure gegeben.

e) Die Schleimsäure-Reaktion auf d-Galaktose, d-Galakturonsäure und Aldehyd-Schleimsäure.

Diese Kent-Tollenssche Reaktion[1]), welche auf der Bildung von Schleimsäure bei der Oxydierung von d-Galaktose mittels Salpetersäure beruht, wird auch von l-Galaktose, Rhamnohexonsäure und Querzit, ebenso von allen Galaktose abspaltenden Substanzen gegeben. Weil l-Galaktose und Rhamnohexonsäure hier wohl nicht in Betracht kommen, Querzit nur in einem Falle (Eichen) aufgefunden ist, die galaktoseliefernden Substanzen hier bei der Hydrolyse in Galaktose übergeführt werden, so ist hier das Auftreten von Schleimsäure mit großer Wahrscheinlichkeit auf d-Galaktose oder d-Galakturonsäure zurückzuführen.

Ausführung der Reaktion:

Die ursprüngliche Kent-Tollenssche Vorschrift läßt 5 g Substanz mit 60 ccm Salpetersäure 1,15 im Wasserbade auf $^1/_3$ Volum eindampfen, worauf 24 Stunden beiseite gestellt wird. Nach dieser Zeit werden die Kristalle auf einem Saugfilterchen gesammelt und mit Wasser gewaschen.

Besprechung und Prüfung der Reaktion:

Besonders wenn die Schleimsäure aus einem unreinen Medium auskristallisiert, haben die Kristalle oft eine undeutliche Form, so daß sie mikroskopisch nicht erkannt werden können (Fig. 8).

---

[1]) W. H. Kent. Diss. Göttingen 1884 S. 20. — B. Tollens. Liebig. Ann. **232**, 186 (1886).

Fig. 8. Schleimsäure-Kristalle. Erste Kristallisation

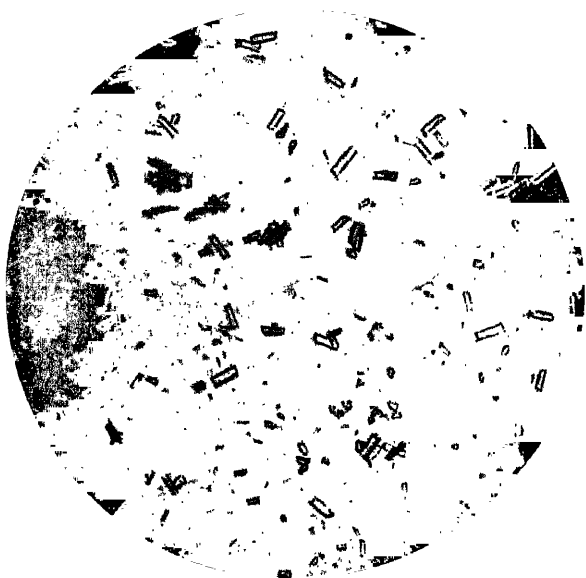



Fig. 9. Schleimsäure-Kristalle. Nach einmaliger Umkristallisierung

In diesem Falle können wir nach zweierlei Methoden vorgehen:

1. Die Kristalle werden in wenig verdünnter Natronlauge gelöst und nach Ansäuerung mit Salzsäure wieder kristallisieren gelassen. Sehr oft kristallisiert dann die Schleimsäure schön in Prismen aus, welche schief abgeschnitten sind, meistens aber so wenig, daß sie bei oberflächlicher Betrachtung den Eindruck vollkommener Rechteckigkeit machen (Fig. 9).

Fig. 10. Schleimsäure-Kristall. Nach einmaligem Umkristallisieren, bei stärkerer Vergrößerung

Auch kommt es vor, daß eine der Ecken oder zwei entgegengesetzte Ecken abgestumpft sind, wie Fig. 10 zeigt.

2. Ein als solches nicht erkennbares oder schwer zu erkennendes Schleimsäurepräparat kann in sein Thalliumsalz umgewandelt werden.

Eine kleine Menge Schleimsäure wird in einem kleinen Wassertropfen auf einem Objektgläschen mit Ammonia liquida neutralisiert.

Fig. 11.
Kristalle des schleimsauren Thalliums

Wird ein Körnchen Thalliumnitrat in dem Tropfen hin und her bewegt, bis Lösung eingetreten ist, so entsteht eine reichliche Ausscheidung rechteckiger Stäbchen (Prismen) Fig. 11.

Schmelzpunkt der Schleimsäure.

Die oben angegebene Umkristallisierung wird so oft wiederholt, bis der Schmelzpunkt 213°—214° im Rothschen Apparate beträgt. Das ist meistens nach zwei Umkristallisierungen der Fall. In mehreren Werken wird auch der unrichtige Schmelzpunkt 225° angegeben.

Elementar-Analyse der Schleimsäure.

Nach der Formel $C_6H_{10}O_8$ sollen 34,27% C und 4,8% H erhalten werden.

Bemerkung:

Auch die d-Galakturonsäure und Aldehydschleimsäure geben die Schleimsäurebildung.

B. Quantitativer Teil

I. Quantitative Hexosenbestimmung durch Vergärung

(Biochemische Methode)

Nachdem nach der qualitativen Gärprobe Hexosen (d-Glukose, d-Fruktose, d-Mannose) und nach der Schleimsäurereaktion oder nach der Laktosehefegärung oder in anderer Weise die d-Galaktose nachgewiesen worden ist, sind wir imstande mit verschiedenen quantitativ arbeitenden Apparaten unter Benutzung verschiedener Hefen, aus der erhaltenen Menge Kohlendioxyd, genannte Hexosen zu bestimmen, so daß d-Glukose, d-Fruktose und d-Mannose zusammen bestimmt werden, wobei es zu gleicher Zeit möglich ist, neben diesen d-Galaktose, unter Zuhilfenahme ihres von den anderen Hexosen hinsichtlich Hefearten abweichenden Verhaltens zu bestimmen.

Pentosen und Methylpentosen werden während der Versuchsdauer von keiner Hefeart vergoren. Zwar teilte Pellet[1]) mit, Pentosen vergären mit größeren Mengen Hefe in einigen Tagen; auf diese Umstände haben wir jedoch keine Rücksicht zu nehmen, weil wir wenig Hefe nehmen, welche auch auf längere Zeit die Pentosen nicht angreift, wenn unter sterilen Bedingungen gearbeitet wird.

---

[1]) H. Pellet. Sur la destruction totale des pentoses au cours de la fermentation alcoolique. C. R. 163, 274 (1916).

a) Die quantitativen Gärapparate und ihre Anwendung

Die Apparate[1]), welche hier in Betracht kommen, sind: das Lohnsteinsche „Präzisionsgärungssaccharimeter“[2]) und der van Iterson-Kluyversche Apparat[3]). Es möge genügen zu erwähnen, daß vor kurzem ein Mikrosaccharometer von van Lutsenburg Maas und van Iterson[4]) konstruiert worden ist, mit welchem mit 0,1—3,5 mg Hexosen quantitative Gärversuche ausgeführt werden. Für unseren Zweck kommt der Apparat jedoch weniger in Betracht.

Während Kluyver (a. a. O.) den Lohnsteinschen Apparat empfiehlt, hat er bei seinen ausführlichen Untersuchungen sehr gute Resultate mit dem van Iterson-Kluyverschen Apparate (siehe später) erhalten.

Zwecks der quantitativen Bestimmung der hier in Betracht kommenden Hexosen nach der biochemischen Methode, habe ich beide Apparate, den Lohnsteinschen und den van Iterson-Kluyverschen mit Erfolg herangezogen, wie aus folgendem ersichtlich werden wird.

I. Der Lohnsteinsche Apparat (Fig. 12)

Fig. 12 Lohnsteinsches Präzisionsgärungssaccharimeter

Von den Apparaten von Lohnstein ursprünglich zwecks der Glukosebestimmung im Harn angefertigt, ist der Apparat „bis zu 10% Hexose“ am meisten zu empfehlen.

Es stellte sich bei meinen Versuchen heraus, daß dieser Apparat mit seiner empirischen Skaleneinteilung die Glukose genau, einfach und schnell in Prozenten wiedergibt.

Jedem Apparat wird eine ausführliche Beschreibung und Berechnungen beigegeben, um beim Innehalten der Temperatur und dem Luftdruck den richtigen Prozentgehalt aufzufinden. Eine $^1/_2$ ccm-Pipette wird beigegeben.

---

[1]) Für eine Übersicht über alle Apparate sei auf die A. J. Kluyversche Dissertation: Biochemische Suikerbepalingen S. 49, Delft 1914, verwiesen.

[2]) Münch. Woch. **46**, 1671 (1899).

[3]) Siehe Diss. Kluyvers bei [1])

[4]) Frl. H. J. van Lutsenburg Maas und G. van Iterson. Een microsaccharometer. Acad. Amsterdam **24**, 251 (1915).

Weil der Apparat „bis zu 10% Glukose“ angefertigt ist, ist die größte zu vergärende Menge Glukose 50 mg.

Es muß für sehr gute Einfettung des Stöpsels Sorge getragen werden, damit durch den Druck kein Gas entweichen kann.

Es sind am Apparate zwei Skaleneinteilungen, eine für 20° und eine für 35° angebracht worden.

Ist nun der Apparat z. B. bei t° gefüllt, nach beendigter Gärung wieder auf t° abgekühlt und sind p_{20} und p_{35} die Ablesungen bei 15°, so ist der %Gehalt:

$$p = p_{35} + \frac{p_{20} - p_{35}}{15} (35 - t).$$

Weil die Skaleneinteilung für einen Luftdruck von 760 mm Quecksilber angefertigt ist, wird für den Barometerstand eine Korrektion eingeführt:

Ist p_0 die bei Barometerstand B mm gemachte Ablesung, so ist der wirkliche Glukosegehalt nach Lohnstein:

$$p = p_0 \times \frac{B + 90}{850}$$

Prüfung des Apparates:

23	mg Glukose	(100%)	gaben	im	Apparat	$23^1/_4$ mg
11	„ „	„	„	„	„	10,5 „
50	„ „	„	„	„	„	49,5 „
$20^1/_4$	„ d-Fruktose	„	„	„	„	20,5 „
20	„ d-Mannose	„	„	„	„	18,5 „

Aus diesen Ergebnissen möge zur Genüge folgen, daß der Apparat nicht nur genügend genau arbeitet, sondern ebenso, daß er für d-Glukose, d-Fruktose und d-Mannose dieselben Resultate ergibt. Das war im voraus zu erwarten, weil wir aus den Kluyverschen Untersuchungen (a. a. O., Diss.) schon wissen, daß die drei genannten Hexosen nahezu gleiche Mengen CO_2 entwickeln, nämlich 1 ccm CO_2 = 4 mg d-Glukose = 4,1 mg d-Fruktose = 4,1 mg d-Mannose.

Für d-Galaktose ist der Apparat wegen des abweichenden Verhaltens der Galaktose weniger geeignet. Später wird sich herausstellen, wie wir ihn verwerten können, um die 3 Hexosen zusammen neben Galaktose zu bestimmen. Wenn im Lohnsteinschen Apparat die Gärung bei 35° C in Gang gesetzt wird, werden die ersten 3 Hexosen in 3—4 Stunden vergoren, indem die d-Galaktose praktisch völlig intakt geblieben ist. Wenn also nach

3 Stunden der Stand der Quecksilberoberfläche abgelesen wird, und wir uns davon überzeugt haben, daß das Quecksilber nicht mehr in die Höhe steigt, so bestimmen wir in oben angegebener Weise den Prozentgehalt der genannten 3 Hexosen (Glukose, Fruktose, Mannose).

Jedesmal benutzte ich 100 mg Preßhefe und fand darin ca. 1 mg wie Glukose reagierende Substanz. Das wäre also von der erhaltenen Menge Glukose in Abzug zu bringen. Dr. Lohnstein teilte mir gütigst mit, daß ein Blanko-Versuch nicht angestellt werden sollte, weil der Einfluß der Hefe auf die Ergebnisse äußerst gering sei. Der sehr kleine Fehler könnte dann noch umgangen werden durch Auswaschen der Hefezellen. Weil ich stets 100 mg Hefe benutzte, erachte ich es besser, stets 1 mg Glukose in Abzug zu bringen, jedenfalls den Blanko-Versuch anzustellen.

Es ist stets für frische gute Preßhefe (Bäckerhefe) Sorge zu tragen (siehe Schlußbetrachtung).

2. Der Van Iterson-Kluyversche Apparat und Tabellen.

Dieser Apparat (Fig. 13) unterscheidet sich von dem Lohnsteinschen dadurch, daß keine empirische Skaleneinteilung benutzt wird, und zugleich Hefen-Reinkulturen, wobei unter sterilen Bedingungen gearbeitet werden soll.

Dieser Sterilität wegen und durch die Tatsache, daß der Apparat bequem sterilisiert werden kann, ist er sehr geeignet, auch die d-Galaktose, welche als langsam gärender Zucker, die ca. 60 Stunden zur völligen Vergärung braucht, zu bestimmen.

In der genannten Kluyverschen Dissertation (der dieser Apparat zugrunde liegt) wird der Apparat beschrieben.

In soweit es hier dienlich ist, werde Folgendes daraus zitiert (aus der Zeichnung ist der Bau des Apparates ohne weiteres ersichtlich):

Arbeitsmethode:

Zuerst werden die beiden offenen Enden des U-Rohres mit einem Wattebausch keimdicht verschlossen und dann der Apparat mit geschlossenem Hahn K_1 in einem Trockenschrank durch Erhitzen auf 160° sterilisiert. Durch den offenen Schenkel des Apparates wird sterilisiertes Quecksilber vorsichtig eingegossen, wobei K_1 natürlich geschlossen bleibt und K_2 geöffnet wird. Man nimmt eine so große Menge Quecksilber, daß dessen Höhe im U-Rohr etwas über Hahn K_2 reicht. Jetzt bringt man 1—2 ccm

der zu untersuchenden Flüssigkeit vorsichtig steril auf das Quecksilber über K_2. Dadurch, daß man den Apparat eine schräge Lage einnehmen läßt, läßt man das Quecksilber in die Höhe steigen, bis die Oberfläche der über dem Quecksilber stehenden Flüssigkeit ein wenig unter dem Wattebausch steht. Hierauf wird K_2 geschlossen und vorsichtig, mit Hilfe eines ausgeglühten dicken Platindrahtes, eine daran haftende Menge Hefe einer Rohrreinkultur in die Flüssigkeit gebracht und in derselben verteilt; hierzu wird der Apparat abermals in schräge Lage gebracht, um Infektionsgefahr zu verringern. Wenn diese Manipulation geschehen ist, wird das Rohr mit dem Wattebausch wieder verschlossen und Hahn K_2 geöffnet. Dann läßt man durch Öffnen des Hahnes K_1 soviel Quecksilber aus dem Apparat ausfließen, daß die mit Hefe geimpfte Flüssigkeit teilweise unter, teilweise über Hahn K_2 steht, worauf man durch Schrägstellung des Apparates dem Quecksilber eine derartige Lage gibt, daß der Meniskus des Quecksilbers genau am Teilstriche von 1 ccm steht. Hierauf wird Hahn K_2 wieder geschlossen, wobei man durch gute Einfettung usw. dafür Sorge zu tragen hat, daß derselbe absolut luftdicht schließt. Jetzt wird aus Hahn K_1 so viel Quecksilber ausfließen gelassen, daß die Oberfläche des Quecksilbers sehr niedrig steht. Der so vorbereitete Apparat wird in einen Thermostaten bei 30°—35° C gebracht. Während der Gärung wird durch Ausfließenlassen von Quecksilber aus Hahn K_1 dieses niedrig gehalten. Dann und wann wird durch vorsichtiges Schütteln die Hefe in der Flüssigkeit verteilt, um Übersättigung derselben mit Kohlensäure vorzubeugen.

Fig. 13
Van Iterson-Kluyversche Apparat. (Von Warmbrunn, Quilitz & Co., Berlin SO 36, Lausitzer Straße 10, in den Handel gebracht.) Aus der Kluyverschen Dissertation.)

Wenn die Vergärung beendet ist (bei langsam vergärenden Zuckern zweimal 24 Stunden), wird der Apparat bei Zimmertemperatur hingestellt und nach einer halben Stunde das Volumen des gebildeten Kohlendioxyds abgelesen, nachdem so viel Quecksilber in den Apparat gegeben ist, daß dasselbe in beiden Schenkeln

in gleicher Höhe steht. Sofort wird die Temperatur und der Luftdruck wahrgenommen. Weil beide das Volumen beeinflussen, wird auf 0° und 760 mm umgerechnet, was am einfachsten zu geschehen hat durch Abzug eines bestimmten Prozents des Volumens. Aus untenstehender Tabelle ist das ohne Weiteres ersichtlich.

Tabelle nach **A. J. Kluyver** (a. a. O.)

Korrektionswerte (Prozente) zur Umrechnung der bei verschiedenen Temperaturen und Luftdrucken abgelesenen Kohlensäurevolumen bei 0° C und 760 mm.

Temperatur in Celsiusgrad	Luftdruck in mm Quecksilber					
	730	740	750	760	770	780
11	7,7	6,4	5,1	3,9	2,6	1,3
12	8,0	6,7	5,4	4,2	2,9	1,7
13	8,3	7,1	5,8	4,5	3,3	2,0
14	8,6	7,4	6,1	4,9	3,6	2,4
15	8,9	7,7	6,4	5,2	3,9	2,7
16	9,3	8,0	6,8	5,5	4,3	3,0
17	9,6	8,3	7,1	5,9	4,6	3,4
18	9,9	8,6	7,4	6,2	4,9	3,7
19	10,2	9,0	7,7	6,5	5,3	4,0
20	10,5	9,3	8,0	6,8	5,6	4,4
21	10,8	9,6	8,3	7,1	5,9	4,7
22	11,0	9,8	8,6	7,4	6,2	4,9

3. Die Hefearten

Von den Hefearten, welche für unseren Zweck von Wichtigkeit sind, sind zu nennen: die Reinkulturen von Saccharomyces cerevisiae, Torula dattila (Dattelhefe) und die Laktosehefe nach Kluyver; weiter die gewöhnliche Preß- oder Bäckerhefe.

Die Reinkulturen, bei welchen es sich hauptsächlich um die Laktosehefe handelt, sind an dem Institut für Gärungsgewerbe und Stärkefabrikation (Abtlg. Prof. Dr. Lindner), Berlin N. 65, Seestraße 13 zu haben[1]). Das Laboratorium voor technische botanie (Dir. Prof. Dr. G. van Iterson), Poortlandlaan Delft erklärte sich bereit, Abimpfungen der Laktosehefe nach Kluyver zum Selbstkostenpreis nur für Holland abzuliefern.

[1]) In Deutschland à 5 Mk. pro Rohr, für das Ausland 5 Mk. nach dem Kurs 1914, also für Holland 3 Holl. Gulden. — Anfragen z. B. Laktosehefe nach Kluyver für Analysenzwecke.

Für diejenigen, welche mit der Herstellung der Hefereinkulturen nicht völlig vertraut sind, ist es ratsam, sie von oben angegebenen Adressen kommen zu lassen.

Für diejenigen aber, die die Reinkulturen selbst herstellen wollen, gibt Kluyver (a. a. O.) Folgendes an:

Dattelhefe

Aus einem Muster Datteln werden kleine Stückchen in ein Kölbchen gebracht und 5 Tropfen Milchsäure (1 Tr. : 0,1 n. Alkali) zugegeben. Nach Erwärmen auf 34° C während 2 Tagen ist kräftige Gärung eingetreten. Jetzt wird eine Plattenkultur auf Malzgelatin angelegt. Neben mehreren Bakterienkolonien treten große runde Hefekolonien auf, welche in Reinkultur gebracht werden. Die Hefe zeigt keine Hautbildung und keine Endosporen. Hierauf soll achtgegeben werden, weil Kluyver (a. a. O. S. 15) von einem anderen Dattelmuster eine der Formen von Willia anomala (Saccharomyces anomalis) isolieren konnte, welche Hautbildung auf Malzextrakt und hutförmige Endosporen zeigte und einen angenehmen Estergeruch hatte.

Laktosehefe

30 ccm Buttermilch werden während zweimal 24 Stunden bei 34° C beiseite gestellt, danach eine sehr geringe Menge auf Malzgelatinplatten ausgesät.

Saccharomyces cerevisiae

Sie wurde von Kluyver (a. a. O.) aus der Preßhefe der „Nederlandsche Gist- en Spiritusfabriek, Delft“ in Reinkultur gebracht.

Prüfung des Van Iterson-Kluyverschen Apparats

Handelt es sich darum, nur ein Monosaccharid (Hexose) zu bestimmen, so werden in der beschriebenen Weise (S. 109) einige ccm der Monosaccharidlösung in geeigneter Konzentration (ca. 2%) in den Apparat gegeben und mit einer Hefeart geimpft, welche die Hexose vergärt. Nach beendigter Gärung werden das Volumen CO_2, die Temperatur und der Luftdruck abgelesen und das Volumen auf 0° und 760 mm reduziert und weiter für die in der 1 ccm-Flüssigkeit gelöst gebliebenen Kohlensäure der Kluyversche Korrektionsfaktor (a. a. O.) von 1,2 ccm CO_2 bei 0° und 760 mm hinzugezählt.

Für die Berechnung der Mengen Hexose aus dem CO_2-Volumen gibt Kluyver (a. a. O.) folgende Übersicht:

	Anzahl mg Hexose, mit 1 ccm CO_2 bei 0° und 760 mm übereinstimmend			
	d-Glukose	d-Fruktose	d-Mannose	d-Galaktose
Saccharom. cerev. (Preßhefe)	4,0	4,1	4,0	4,3 in 60 St.
Saccharom. cerev. (Unterhefe)	4,1	4,1	4,0	4,1 in 5 Tagen
Torula dattila	4,0	4,1	4,1	—
Laktosehefe	4,2	4,2	4,3	4,4
Schizosacchar. Pombe . .	4,2	4,2	4,2	—

Aus obenstehender Tabelle ist ersichtlich, daß nur Torula dattila und Schizosaccharomyces Pombe die d-Galaktose nicht vergären. Bezugnehmend auf diese Tatsache und überdies darauf, daß Saccharomyces cerevisiae und die Laktosehefe d-Glukose, d-Mannose und d-Fruktose in 3 Stunden vergären, dabei die d-Galaktose praktisch unangegriffen lassend, die erst in ca. 60 Stunden vergärt, hat Kluyver (a. a. O.) die quantitative Bestimmung der Zucker nebeneinander mit verschiedenen Hefen mit gutem Erfolge durchgeführt.

Für unseren Zweck handelt es sich nur um d-Glukose, d-Mannose, d-Fruktose und d-Galaktose.

Schließlich habe ich den Van Iterson-Kluyverschen in Verbindung mit dem Lohnsteinschen Apparate benutzt, was von Vorteil ist, weil wir in diesem Falle nur eine Reinkultur, nämlich die Laktosehefe für den v. I.-Kl.schen Apparat und die gewöhnliche überall zu habende Preßhefe nötig haben. Obschon wir hier 2 Apparate benutzen, gestaltet sich die Untersuchung doch einfacher, weil wir bei Benutzung des v. I-K.schen Apparates allein 2 Reinkulturen bedürfen.

4. Bestimmung von (d-Glukose + d-Fruktose + d-Mannose) und d-Galaktose im Van Iterson-Kluyverschen Apparate mittels Reinkulturen von Saccharomyces cerevisiae und Torula dattila nach Kluyver (a. a. O.)

Aus dem zu untersuchenden Saccharidgemisch wird z. B. eine 4%ige Lösung (400 mg in 10 ccm) hergestellt.

Ein Apparat wird, wie früher beschrieben, mit einer Reinkultur aus Saccharomyces cerevisiae geimpft, wobei also

in ca. 60 Stunden die vier Hexosen vergoren werden. Das Volumen CO_2 wird abgelesen und auf 0° und 760 mm reduziert.

Mit einem zweiten Apparat wird genau so verfahren aber mit einer Reinkultur aus Torula dattila geimpft, wobei also die Hexosen, außer der d-Galaktose, vergären. Auch hier wird das abgelesene CO_2-Volumen auf 0° und 760 mm reduziert. Zu beiden erhaltenen Werten muß dann noch 1,2 cm CO_2 addiert werden für das in „1 ccm" gelöste Quantum.

Werden jetzt die Werte für 1 ccm CO_2 aus der Tabelle auf S. 113 angewandt, so besitzen wir alle Daten, mit welchen wir die Summe der drei Hexosen, und die d-Galaktose berechnen können.

5. Bestimmung von (d-Glukose + d-Mannose + d-Fruktose) und d-Galaktose im Van Iterson-Kluyverschen Apparate mittels Reinkulturen aus Schizosaccharomyces Pombe und Laktosehefe nach Kluyver (a. a. O.)

Es wird genau so wie bei 4 angegeben verfahren, wobei jetzt Schizosaccharomyces Pombe nur die ersten Hexosen vergärt und die Laktosehefe alle 4.

Berechnung usw. wie bei 4.

6. Beispiel einer Bestimmung von (d-Glukose + d-Fruktose + d-Mannose) und d-Galaktose mittels Laktosehefe und gewöhnlicher Preßhefe unter Benutzung der Van Iterson-Kluyverschen und Lohnsteinschen Apparate.

Diese Bestimmung wurde mit einer Lösung von 100 mg d-Glukose + 100 mg d-Galaktose (beide 100%ig) in Wasser von 15° C und genau auf 10 ccm aufgefüllt, ausgeführt. Im Lohnsteinschen Apparat wurde ½ ccm der Lösung mit 100 mg gewöhnlicher Preßhefe während 3 Stunden bei 35° C vergären gelassen nebst dem blinden Versuch mit ½ ccm Wasser ohne Zucker. Bei derselben Temperatur, bei welcher abgelesen wurde, war vorher der Apparat auf 0 eingestellt worden.

Ablesungen: t war 15°; Luftdruck 735 mm, $p_{20} = 1{,}26$, $p_{35} = 1{,}04$

$$\text{also war } \%\text{-Gehalt} = 1{,}04 + \frac{0{,}22}{15} \times 20 = 1{,}333$$

Auf 760 mm reduziert:

$$\%\text{-Gehalt} = 1{,}333 \times \frac{735 + 90}{850} = 1{,}293\,\%$$

In der ½ ccm-Lösung war also 6,465 mg d-Glukose vorhanden.

Von diesem Wert soll 1 mg Glukose des blinden Versuchs in Abzug gebracht werden, bleibt also 5,465 mg (5 mg berechnet).

Weil wir im v. I.-Kl.schen Apparate 1 ccm Lösung benutzen und wir den Kohlensäurewert der im Lohnsteinschen Apparate bestimmten 5,465 mg d-Glukose für $\frac{1}{2}$ ccm (also hier 2 × 5,465 mg) von der im v. I.-Kl.schen Apparat total gefundenen Kohlensäuremenge für die Galaktosebestimmung in Abzug zu bringen haben, können wir also für die 2 × 5,465 mg Glukose $\frac{10,93}{4,2}$ ccm CO_2 bei 0° und 760 mm = 2,6 ccm CO_2 in Abzug bringen (siehe Tabelle auf S. 113).

Inzwischen war der v. I.-Kl.sche Apparat mit einer Laktosehefereinkultur in Gang gesetzt und wurden nach 72 Stunden folgende Ablesungen gemacht:

t = 17,5°, Luftdruck = 735. Ablesung = 3,95 ccm.

Aus der Tabelle auf S. 111 ist ersichtlich, daß für die Reduzierung auf 0° und 760 mm 9,1% von 3,95 ccm in Abzug zu bringen sind. Es bleiben also 3,59 ccm CO_2. Hierbei müssen 1,2 ccm für die sich in der 1 ccm-Lösung befindenden CO_2 zugezählt werden; wir finden also für die Summe von Glukose und Galaktose 3,59 + 1,2 = 4,79 ccm CO_2.

Aus „Lohnstein“ folgte für die Glukose 2,6 ccm CO_2 für 1 ccm. Es bleiben also für die Galaktose 2,19 ccm CO_2.

Nach der Tabelle auf S. 113 entwickelt Laktosehefe 1 ccm CO_2 aus 4,4 mg d-Galaktose. Die 2,19 ccm CO_2 korrespondieren also mit 2,19 × 4,4 mg = 9,64 mg d-Galaktose in 1 ccm (berechnet 10 mg).

Aus diesem praktischen Beispiel wird uns einleuchten, daß ungeachtet der Benutzung zweier verschiedener Apparate und mehrerer Ablesungen und Korrektionen die erhaltenen Resultate praktisch recht befriedigend zu nennen sind.

Es wurde etwas zuviel an Glukose konstatiert, auf welche Tatsache schon Kluyver (a. a. O.) hingewiesen hat.

7. Bestimmung der Hexosenmenge aus Glukosiden usw. nach den oben behandelten und geprüften biochemischen Methoden ausgearbeitet.

Nachdem wir oben gesehen haben, wie die freien Hexosen bestimmt werden können, habe ich die Methode wie folgt für deren Bestimmung in Glukosiden, Polysacchariden usw. ausgebaut.

Als praktische Demonstration habe ich dafür als Beispiel 3 reine kristallinische, chemisch bekannte Glukoside ausgewählt. Zwar sind diese 3 Glukoside: Phloridzin, Koniferin und Äskulin nur d-Glukose-Verbindungen und ist hier nur der Lohn-

steinsche Apparat benutzt worden, wir haben jedoch beobachtet, wie geeignet der v. Iterson-Kluyversche Apparat dafür ist. Liegen Glukoside oder andere Verbindungen vor, welche auch d-Galaktose abspalten, dann ist begreiflich, daß die Bestimmung mit verschiedenen Hefearten gar keine Schwierigkeiten bietet, die d-Galaktose neben den anderen Hexosen zu bestimmen. Wir werden in Kap. X noch zu sehen bekommen, wie das in Aprikosengummi, Kastaniensaponin und Traganth geschah und wie wir aus der quantitativen Gärprobe mit Laktosehefe in Verbindung mit der quantitativen Schleimsäurebestimmung nach Kent-Tollens-Creydt-van der Haar mit meinen Tabellen die Menge Galakturonsäure und die Galaktose nebeneinander bestimmen können.

Wir haben also nur die abzuspaltenden Monosaccharide und Säuren in eine Form zu bringen, welche für Hefeneinwirkung geeignet ist unter Einhaltung der quantitativen Bedingungen.

Es wurde wie folgt verfahren:

$^1/_2$ g des Glukosids wurde während 2 Stunden mit 20 ccm 4%iger Schwefelsäure auf dem Drahtnetze rückfließend gekocht. Nach der Hydrolyse und Abkühlung wurde durch ein Filterchen filtriert und mit Wasser bis völliger Säurefreiheit ausgewaschen. Das in einem Erlenmeyerkölbchen gesammelte Filtrat wurde mit geringem Überschuß an reinem Baryumkarbonat neutralisiert (nicht in einem Schälchen, Wegspritzen von Flüssigkeitsteilchen). Die Flüssigkeit wurde quantitativ in ein Schälchen gebracht und auf dem Wasserbade völlig eingedampft. Die trockne Masse wurde in ein Kölbchen gegeben, das Schälchen mit 20 ccm warmem Alkohol 90% umgespült und dieser in das Kölbchen gegeben. Dann wurde während 10 Minuten im Wasserbade rückfließend gekocht, die Flüssigkeit auf einem Saugfilterchen mit der Wasserstrahlpumpe klar filtriert (Inhalt Saugkölbchen 50 ccm und Trichterchen ca. 5 cm Durchmesser); dann wurde das Baryumkarbonatschälchen noch einmal mit 5 ccm warmem Alkohol umgespült, mit diesem ebenso das Kochkölbchen und mit diesem die Baryumkarbonatmasse ausgewaschen. Das wurde noch dreimal mit 10 ccm Alkohol wiederholt.

Die gesammelten alkoholischen Filtrate wurden in einem kleinen geradwandigen Schälchen abgedampft und die restierende sirupöse Masse mit kleinen Mengen Wassers in einen Meßkolben von 10 ccm gespült und mit Wasser von 15° C bis an den Teilstrich aufgefüllt.

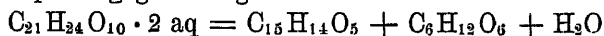
Mit dieser vollkommen für quantitative Gärung geeigneten Flüssigkeit werden nun die oben beschriebenen Gärversuche angestellt.

Für die oben genannten Glukoside ist die oben angegebene Hydrolysierungsmethode eine gute zu nennen. In anderen Fällen kann es nötig sein unter Druck zu hydrolysieren oder konzentrierte Säure zu wählen. Das muß natürlich für jeden Fall bestimmt werden.

Weil mit den 10 ccm Lösung (= 1/2 g Glukosid) mehrere Versuche gemacht werden können, ist es ratsam, die Versuche in Duplo anzustellen.

α) Bestimmung der Hexose in Phloridzin

Die Spaltungsgleichung ist:

$$C_{21}H_{24}O_{10} \cdot 2\,aq = C_{15}H_{14}O_5 + C_6H_{12}O_6 + H_2O$$

Phloridzin (472) Phloretin Glukose (180)

Phloridzin (Merck) wurde einige Male aus Wasser umkristallisiert und bei 50° getrocknet. Eine Wasserbestimmung bei 110° ergab 2 Mol. H_2O.

1/2 g wurde wie oben angegeben hydrolysiert, das entstandene Phloretin auf einem Filterchen gesammelt und ausgewaschen. Wie oben wurde weiter behandelt und schließlich auf 10 ccm aufgefüllt.

Im Lohnsteinschen Apparat wurde 1/2 ccm Lösung mit 50 mg Preßhefe bei 15° C auf 0 eingestellt, dann während 4 Stunden bei 32° vergoren.

1. Bestimmung:

Ablesung bei 15° auf Skaleneinteilung 35° = 1,66
" " 15° " " 20° = 2,—
" " 15° blinder Versuch = 0,22.

Nach Lohnsteins Formel (S. 108) ist also in 1/2 ccm 2,11 % Glukose enthalten, also 2,11 × 5 = 10,55 mg Glukose. In Abzug 0,22 × 5 = 1,1 mg. Bleiben 9,45 mg Glukose, aus 25 mg Glukosid also 37,8 % d-Glukose.

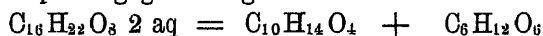
2. Bestimmung:

$p_{35} = 1{,}55$; $p_{20} = 1{,}85$; blinder Versuch 0,11.

Also 9,2 mg Glukose = 36,8 %. Berechnet wurde 38,12 %.

β) Koniferin

Die Spaltungsgleichung ist:

$$C_{16}H_{22}O_8\ 2\,aq = C_{10}H_{14}O_4 + C_6H_{12}O_6$$

Koniferin (378) Koniferylalkohol Glukose (180)

Koniferin (Merck) wurde aus Wasser umkristallisiert und bei 50^0 getrocknet.

Eine Wasserbestimmung ergab 2 Mol. H_2O.

1. Bestimmung:

$p_{35} = 1,88$; $p_{20} = 2,3$; blinder Versuch = 0,11.

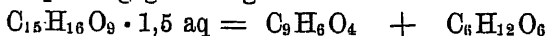
Also 11,65 mg d-Glukose = 46,6 %.

2. Bestimmung:

Ebenso 46,6 % d-Glukose. Berechnet 47,6 % d-Glukose.

γ) Äskulin

Die Spaltungsgleichung ist:

$C_{15}H_{16}O_9 \cdot 1,5\ aq = C_9H_6O_4 + C_6H_{12}O_6$

Äskulin (385) Äskuletin d-Glukose (180),

Äskulin (Merck) wurde aus Wasser umkristallisiert und bei 50^0 getrocknet. Eine Wasserbestimmung bei 110^0 wies 7 % an, also ca. 1 aq ($1^1/_2$ aq = 9,36 %).

Darum wurde genommen $^1/_2$ g = 465 mg wasserfrei.

1. Bestimmung:

$p_{35} = 1,95$; $p_{20} = 2,4$; blinder Versuch = 0,11.

Also gefunden 12,2 mg = 48,8 % d-Glukose.

2. Bestimmung:

$p_{35} = 2,5$; $p_{20} = 3$; blinder Versuch = 0,43 (100 mg Hefe).

Also gefunden 54,6 %. Im Mittel 51,7 %. Berechnet 50,3 %.

Schlußbetrachtung:

Die Hexosenbestimmung in Glukosiden nach der biochemischen Methode ist genügend genau, dabei die mannigfaltigen Ausführungen in Betracht ziehend. Meistens wird etwas zu wenig gefunden, verursacht durch die stattfindende geringe Zersetzung der Hexosen während der Hydrolyse.

Manchmal war 50 mg frische Preßhefe imstande, alle Glukose zu vergären, aber nicht immer. Es ist daher ratsam, stets 100 mg Preßhefe zu nehmen.

Herrn Prof. Dr. G. van Iterson, Delft verdanke ich eine mündliche Mitteilung, daß es erwünscht sei, stets zu kontrollieren, ob die Hefe richtig gewirkt hat, d. h. imstande war, alle Hexosen unter den gegebenen Bedingungen zu vergären. Es besteht die Möglichkeit, daß bei der Glukosidhydrolyse entstandene und nicht völlig entfernte Verunreinigungen die Gärung hemmen. Wir werden

noch erfahren (siehe später), daß das bei größeren Mengen Hexose, welche verunreinigt bei der Hydrolyse entstanden sind, oft der Fall ist, aber auch bei oben genannten quantitativen Versuchen mit wenig Hexose bleibt die Möglichkeit bestehen. Herr Prof. Dr. van Iterson meldete mir, daß ein solcher Fall bei Senfölglukosiden vorliegt.

Die gewünschte Kontrollierung besteht darin, eine bekannte kleine Hexosemenge in einem Parallelversuche hinzuzufügen, um zu sehen, ob diese Menge aus dem Kohlensäurevolumen wiedergefunden wird. Dann haben wir Sicherheit über die richtige Wirkung der Hefe.

Übrigens liegt oft schon eine Kontrolle in der quantitativen Galaktosebestimmung nach der Schleimsäuremethode auf S. 123 vor. Siehe weiter Kap. X. Was den Lohnsteinschen Apparat anbetrifft, erschienen in vereinzelten Fällen Angaben über seine weniger zuverlässige Wirkung. Es sei nochmals bemerkt, daß der Apparat bei richtiger Handhabung und Benutzung frischer unverdorbener Preßhefe praktisch genau arbeitet.

Gorter und de Graaff[1]) urteilten ebenso günstig über den Lohnsteinschen Apparat, ebenso vorher N. Schoorl[2]).

[1]) E. Gorter und W. C. de Graaff, Klinische Diagnostiek, 2. druk. 1918.

[2]) N. Schoorl, De quantitat. bepaling van suiker in urine door middel van Lohnsteins-gistings-saccharometer. Pharm. W. **41**, 868 (1904).

Kapitel V

Quantitative Bestimmung einzelner Monosaccharide, der d-Glukuron- und der d-Galakturonsäure, sowie in Gemischen

A. Gegenwart eines Monosaccharids oder einer Säure

Wenn es sich bei einer Untersuchung herausgestellt hat, daß nur eins der 8 Monosaccharide oder eine der beiden Säuren vorliegt, können folgende Methoden zu ihrer Bestimmung herangezogen werden.

I. Die Pentosanbestimmung

nach dem quantitativen Teil des Kapitels III, wobei aus den Tabellen Kröbers die Menge l-Arabinose und die Menge Xylose gefunden wird.

Nach der Methylpentosanbestimmung nach Kapitel III wird aus der Tabelle Elletts die Menge Rhamnose und aus der Tabelle Mayers die Menge Fukose aufgefunden.

Nach der Pentosanbestimmung wird nach Kapitel III die Menge d-Glukuron gefunden, da 1 Teil des gebildeten Furfurolphlorogluzids 3 Teilen d-Glukuron entspricht. Ebenso wird nach der CO_2-Methode Lefèvres nach Kapitel III die d-Glukuronsäure bestimmt.

Die d-Galakturonsäure ist noch nicht nach der Pentosanbestimmung zu bestimmen. Vorläufig kann sie als d-Glukuronsäure bestimmt werden. Theoretisch wird sie nach der CO_2-Methode Lefèvres dieselbe Menge CO_2 entwickeln wie die d-Glukuronsäure.

2. Kupferreduziermethode nach Fehling-Lehmann-Schoorl

Von den Kupferreduziermethoden, gewichtsanalytischen sowie titrimetrischen, will ich ihrer leichten, schnellen und genauen Hand-

habung wegen nur die Fehling-Lehmann-Schoorlsche mit den Schoorlschen Tabellen[1]) nennen und ausführlich wiedergeben.

Diese ausgezeichnete Methode ist anzuwenden, wenn l-Arabinose, Xylose, Rhamnose, d-Glukose, d-Fruktose, d-Mannose oder d-Galaktose vorliegen, was die Monosaccharide anbetrifft. Für Fukose und die beiden Säuren ist die Tabelle noch nicht ausgearbeitet und es würde ein großer Fehler sein, die Säuren, sei es auch vorläufig, als ein Saccharid anzunehmen. Zum Unterschied von der unter 1. genannten Pentosanbestimmung ist die Methode nur bei Gegenwart eines freien, nicht eines gebundenen Saccharids ohne Weiteres zu benützen. Falls ein Saccharid in Glukosidbindung oder in anderer Weise gebunden vorliegt, ist es notwendig, es durch Hydrolyse oder Enzymwirkung in Freiheit zu setzen. Was die Hydrolyse betrifft, hängt es von der zu hydrolysierenden Substanz ab, ob mit 1%, 2% oder 5%iger Schwefelsäure bei gewöhnlichem Druck oder mit alkoholischer Schwefelsäure oder im Autoklaven bei 130°—150° hydrolysiert werden muß. Das soll in jedem Falle ermittelt werden. Die nötigenfalls filtrierte Flüssigkeit wird mit Baryumkarbonat in geringem Übermaß zur Trockenheit verdampft, die Masse mit 90%igem Alkohol quantitativ ausgekocht, die Lösung filtriert usw. und das Filtrat zur Sirupdicke eingedampft. Eine bestimmte Menge des Saccharids, höchstens 90 mg, werden wie folgt nach Schoorl (a. a. O.) titriert:

„In einen 200—300 ccm fassenden Erlenmeyerkolben werden 10 ccm Fehlingsche Kupfersulfatlösung (69,28 g in 1 l) und 10 ccm Fehlingsche Seignettelösung (364 g Kaliumnatriumtartrat + 100 g Natron zu 1 l) pipettiert, eine bestimmte Menge Saccharid hinzugefügt und mit destilliertem Wasser auf 50 ccm aufgefüllt. Auf einem Drahtnetze, mit einem Stück Asbestpapier mit kreisförmiger, 6 cm messender Öffnung bekleidet, wird die Flüssigkeit in 3 Minuten zum Sieden erhitzt und genau während 2 Minuten im Sieden gehalten. Nach dieser Zeit wird der Kolben im Kaltwasserstrahl schnell auf 25° abgekühlt, 3 g Jodkalium in 10 ccm Wasser und dann 10 ccm 25%ige Schwefelsäure werden zugegeben, dann wird gemischt und sofort mit $^{1}/_{10}$ n. Thio titriert, bis die Flüssigkeit eine schwachbraungelbe Farbe angenommen hat. Dann wird eine ge-

---

[1]) N. Schoorl. Over de titratie van suikers door middel van Fehlings proefvocht. Nederl. Pharm. **11**, 209 (1899); Ch. W. **12**, 481 (1915); Ch. J. 1915—1916, S. 124.

nügende Menge Stärkelösung hinzugegeben und ohne Schütteln, umschwenkend, nicht zu schnell weiter titriert, bis die Farbe rahmfarbig umschlägt.

Unter denselben Bedingungen wird der Kontrollversuch ausgeführt; aus der Differenz beider Titrationen, welche in Duplo anzustellen sind, ist aus der Tabelle die Menge des Saccharids abzulesen (siehe Tabelle).

Die Thiosulfatlösung wird auf getrocknetem 100%igem $KBrO_3$ (27,852 g $KBrO_3$ im L.) titriert. 25 ccm der $^1/_{10}$ n. Lösung, mit 5 ccm 20%igem reinem Kalium jodatum (KJ) und 5 ccm 2 n. Schwefelsäure gemischt, werden mit der Thiosulfatlösung titriert.

Tabelle nach **N. Schoorl**

Anzahl ccm $^1/_{10}$ n. Thio	mg Glukose $C_6H_{12}O_6$	mg Fruktose $C_6H_{12}O_6$	mg Galaktose $C_6H_{12}O_6$	mg Mannose $C_6H_{12}O_6$	mg Arabinose $C_5H_{10}O_5$	mg Xylose $C_5H_{10}O_5$	mg Rhamnose $C_6H_{12}O_5$
1	3,2	3,2	3,3	3,1	3,0	3,1	3,2
2	6,3	6,4	7,0	6,3	6,0	6,3	6,5
3	9,4	9,7	10,4	9,5	9,2	9,5	9,9
4	12,6	13,0	14,0	12,8	12,3	12,8	13,3
5	15,9	16,4	17,5	16,1	15,5	16,1	16,8
6	19,2	20,0	21,1	19,4	18,7	19,4	20,2
7	22,4	23,7	24,7	22,8	21,9	22,8	23,7
8	25,6	27,4	28,3	26,2	25,2	26,2	27,2
9	28,9	31,1	32,0	29,6	28,6	29,6	30,8
10	32,3	34,9	35,7	33,0	32,0	33,0	34,4
11	35,7	38,7	39,4	36,5	35,4	36,5	38,0
12	39,0	42,4	43,1	40,0	38,8	40,0	41,6
13	42,4	46,2	46,8	43,5	42,2	43,5	45,2
14	45,8	50,0	50,5	47,0	45,6	47,0	48,8
15	49,3	53,7	54,3	50,6	49,0	50,6	52,4
16	52,8	57,5	58,1	54,2	52,4	54,2	56,0
17	56,3	61,2	61,9	57,9	55,8	57,9	59,8
18	59,8	65,0	65,7	62,6	59,3	62,6	63,5
19	63,3	68,7	69,6	65,3	62,9	65,3	67,3
20	66,9	72,4	73,4	69,2	66,5	69,2	71,0
21	70,7	76,2	77,2	73,1	70,2	73,1	74,8
22	74,5	80,1	81,2	77,0	74,0	77,0	78,6
23	78,5	84,0	85,1	81,0	77,9	81,0	82,4
24	82,6	87,8	89,0	85,0	81,8	85,0	86,2
25	86,6	91,7	93,0	89,0	85,7	89,0	90,0
26	90,7						
27	94,8						

3. Biochemische Methode

Die Hexosen können nach den biochemischen Methoden im Kapitel IV, quantitativer Teil, bestimmt werden, jede für sich.

Nach den unter 1, 2 und 3 genannten Methoden können also die Monosaccharide und die beiden Säuren, wenn sie jede für sich einzeln vorkommen, bestimmt werden.

Speziell für die d-Galaktose habe ich die Kent-Tollens-Creydtsche Methode ausgearbeitet und mit Tabellen versehen.

4. Bestimmung der d-Galaktose nach der Schleimsäuremethode[1])

Indem ausführlicher auf die gegebenen Literaturstellen verwiesen wird, werde hier die Methode und Besprechung derselben wiedergegeben:

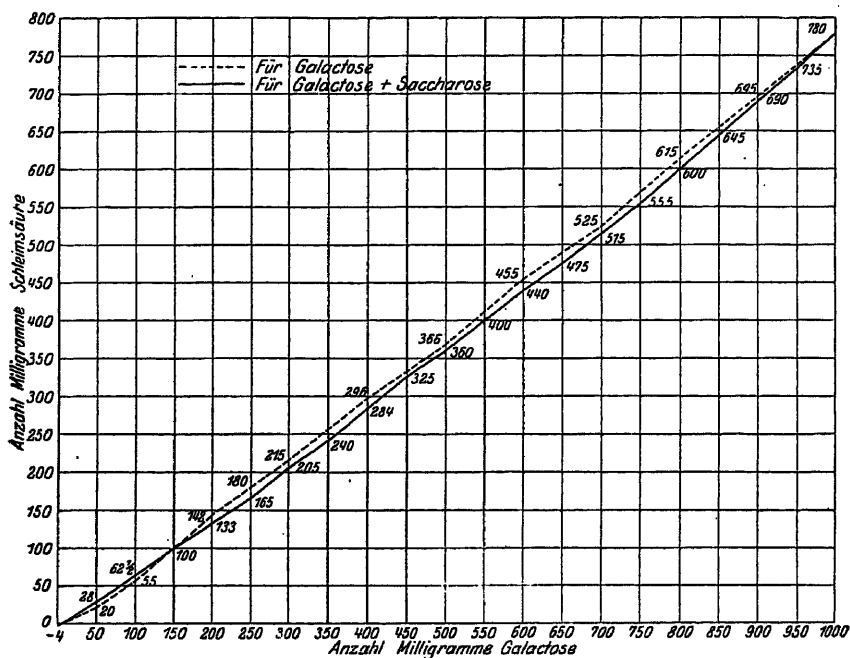



Fig. 14

Mengen der Galaktose von 0, 50, 100, 150 usw. . . . mg (für die zweite Kurve dieselben Mengen, mit Saccharose auf 1000 mg gebracht) werden in Bechergläsern (12 cm hoch, etwa 60 mm Bodendurchmesser) mit 60 ccm Salpetersäure (spez. Gew. 1,15 bei 15°) in einem siedenden Wasserbade, wiederholt umschwenkend, in schräger Stellung erwärmt, bis das Gewicht des Inhaltes der Becher-

[1]) A. W. van der Haar, Eine Methode z. quant. Bestimmung freier und gebundener Galaktose. Bio. **81**, 263—273 (1917), und Ch. W. **13**, 1204—1213 (1916).

gläser etwas unter 20 g (19,8—etwa 20) beträgt; jetzt wird abgekühlt. Nach Auffüllung mit Wasser auf 20 g und Hinzufügung von 500 mg reiner, trockener Schleimsäure wird, genügend abgedeckt, während 48 Stunden beiseite gestellt (Temperatur möglichst 15°), während welcher Zeit mehrmals vorsichtig umgeschüttelt wird (die letzten Stunden soll die Temperatur genau 15° sein). Nach dieser Frist wird die Schleimsäure in einem mit Asbest versehenen Goochschen Tiegel, der nebst Inhalt mit Salpetersäure, dann mit Wasser gewaschen, schließlich getrocknet und geglüht und nach Abkühlung in einem Exsikkator gewogen worden ist, unter schwachem Saugen mit der Wasserstrahlluftpumpe gesammelt. In der bei quantitativer Bestimmung üblichen Weise wird mit viermal 5 ccm bei 15° gesättigter wässeriger Schleimsäurelösung alle Schleimsäure auf dem Asbestfilter gesammelt und abgewaschen. Schließlich wird mit 5 ccm Wasser gewaschen, Tiegel mit Inhalt in einem Wassertrockenschrank bis zum konstanten Gewichte getrocknet und wieder nach Abkühlung in einem Exsikkator gewogen. Nach Abzug des Gewichts des Tiegels + Asbest + 500 mg Schleimsäure wird das Gewicht der gebildeten Schleimsäure gefunden.

Nachdem die Mengen Galaktose auf die Abzissenachse aufgeführt waren, wurden die gefundenen Mengen Schleimsäure auf die senkrechten Linien aufgezeichnet; die erhaltenen Punkte wurden durch eine Linie verbunden. Umgekehrt kann man also eine gefundene Menge Schleimsäure auf der Ordinatenachse aufsuchen und die damit übereinstimmende Menge Galaktose auf der Abzissenachse ablesen. Aus den erhaltenen Daten sind die Tabellen für Intervalle von 10 mg berechnet.

Nähere Betrachtung der Methoden und der Kurven

1. Kent, Tollens und Creydt[1]) gehen von 5 g Substanz aus. Bei phytochemischer Untersuchung jedoch wird man nur selten in der Lage sein, soviel Substanz für die Bestimmung opfern zu können. Deshalb arbeitete ich meine Kurven und Tabellen nicht weiter wie bis 1 g Galaktose aus, so daß man bei Glukosiden oder anderen Galaktosiden von höchstens 1 g Substanz ausgehen muß, indem $^1/_2$ bis $^1/_4$ g ebenso genügen. Jedesmal werden Duplo-Bestimmungen gemacht.

[1]) Dissertation W. H. Kents, Göttingen 1884. — Dissertation R. Creydts, Göttingen 1888.

I. Tabelle für Galaktose.

mg Schleimsäure	mg Galaktose	mg Schleimsäure	mg Galaktose	mg Schleimsäure	mg Galaktose	mg Schleimsäure	mg Galaktose
—4	0	187	260	383,8	520	597	780
+0,8	10	194	270	392,7	530	606	790
5,6	20	201	280	401,6	540	615	800
10,4	30	208	290	410,5	550	623	810
15,2	40	215	300	419,4	560	631	820
20	50	223,1	310	428,3	570	639	830
27	60	231,2	320	437,2	580	647	840
34	70	239,3	330	446,1	590	655	850
41	80	247,4	340	455	600	663	860
48	90	255,5	350	462	610	671	870
55	100	263,6	360	469	620	679	880
64	110	271,7	370	476	630	688	890
73	120	279,8	380	483	640	695	900
82	130	287,9	390	490	650	703,5	910
91	140	296	400	497	660	712	920
100	150	303	410	504	670	720,5	930
108,4	160	310	420	511	680	729	940
116,8	170	317	430	518	690	737,5	950
125,2	180	324	440	525	700	746	960
133,6	190	331	450	534	710	754,5	970
142	200	338	460	543	720	763	980
149,6	210	345	470	552	730	771,5	990
157,2	220	352	480	561	740	780	1000
164,8	230	359	490	570	750		
172,4	240	366	500	579	760		
180	250	374,9	510	588	770		

2. Creydt (a. a. O.) gibt in seiner Dissertation an, man möge in einem Becherglase von 23 cm Bodendurchmesser oxydieren. Dies muß auf einem Irrtum beruhen. Damit bei der Oxydierung keine Flüssigkeitströpfchen aufspritzen, ist das von mir vorgeschriebene Becherglas womöglich von noch etwas höherer Form notwendig und zwar in schiefer Lage. Die Oxydierung soll stets in derselben Zeitdauer beendet sein; dies ist mit genügender Genauigkeit zu erreichen, wenn das Wasserbad von Anfang an siedet.

3. Es braucht nicht näher darauf hingewiesen zu werden, daß bei Benutzung der Tabellen in keinem Teile von der angegebenen Arbeitsweise abgewichen werden darf, damit kein Einfluß auf das Endergebnis ausgeübt wird. Dies zu beurteilen überlasse ich dem Untersucher.

4. Creydt (a. a. O.) läßt die salpetersäurehaltende Flüssigkeit auf ein Drittel des Volums eindampfen. In bezug auf die Ungenauigkeit, mit der ein Drittel Volum in einem Becherglase ge-

II. Tabelle für Galaktose, mit Saccharose auf 1000 mg gebracht.

mg Schleim-säure	mg Galaktose	mg Schleim-säure	mg Galaktose	mg Schleim-säure	mg Galaktose	mg Schleim-säure	mg Galaktose
—4	0	173	260	376	520	582	780
+2,4	10	181	270	384	530	591	790
8,8	20	189	280	392	540	600	800
15,2	30	197	290	400	550	609	810
21,6	40	205	300	408	560	618	820
28	50	212	310	416	570	627	830
34,9	60	219	320	424	580	636	840
41,8	70	226	330	432	590	645	850
48,7	80	233	340	440	600	654	860
55,6	90	240	350	447	610	663	870
62,5	100	248,8	360	454	620	672	880
70	110	257,6	370	461	630	681	890
77,5	120	266,4	380	468	640	690	900
85	130	275,2	390	475	650	699	910
92,5	140	284	400	483	660	708	920
100	150	292,2	410	491	670	717	930
106,6	160	300,4	420	499	680	726	940
113,2	170	308,6	430	507	690	735	950
119,8	180	316,8	440	515	700	744	960
126,4	190	325	450	523	710	753	970
133	200	332	460	531	720	762	980
139,4	210	339	470	539	730	771	990
145,8	220	346	480	547	740	780	1000
152,2	230	353	490	555	750		
158,6	240	360	500	564	760		
165	250	368	510	573	770		

schätzt werden kann, bin ich hiervon abgewichen, indem ich bis etwas unter 20 g eindampfte (19,8—etwa 20) und nach Abkühlung wieder mit Wasser zu 20 g auffüllte. Dies ist ein wichtiger Faktor.

5. Die Hinzufügung von 500 mg trockener reiner Schleimsäure stammt von Creydt her (a. a. O.) und ich habe sie als sehr zweckmäßig übernommen. Die Kristallisation wird dadurch sehr gefördert.

6. Das Papierfilter Creydts (a. a. O) erachte ich aus verschiedenen Gründen weniger geeignet und habe es deswegen durch einen Goochschen Tiegel (32 mm Öffnungsdurchmesser), wie oben mit Asbest versehen und weiter behandelt, ersetzt, wodurch zu gleicher Zeit mit der Wasserstrahlpumpe leise gesaugt werden kann.

Creydt (a. a. O.) wäscht die Schleimsäure nur mit 2 × 5 ccm Wasser aus, was ich als ungenügend erachte. Ich habe deshalb die Menge Waschflüssigkeit vermehrt, und, um Verlust durch Auflösung

zu vermeiden, 4 × 5 ccm bei 15° gesättigte Schleimsäurelösung genommen, mit der zu gleicher Zeit alle Schleimsäure auf den Asbest gebracht werden kann; schließlich wird noch einmal mit 5 ccm Wasser (ebenso wie die Schleimsäurelösung auf 15°) gewaschen.

Diese Arbeitsweise ist nicht nur genauer, sondern zugleich zeitersparend; nach Ablauf der Bestimmung kann nämlich die Schleimsäure mittels Lauge und heißem Wasser entfernt werden, wodurch der Tiegel nach Trocknung und Wägung wieder für die nächste Bestimmung benutzt werden kann.

7. Wenn die Methode richtig befolgt wird, gibt sie genügend genaue Ergebnisse; Doppelbestimmungen können um einige Milligramm differieren.

8. Für das Übrige sei auf die Methode selbst verwiesen.

9. Wenn wir die beiden Kurven näher betrachten, so ersehen wir, daß sie sich außer bei 1000 mg Galaktose noch in einem anderen Punkte schneiden, und zwar bei 150 mg Galaktose, dadurch verursacht, daß bei Mengen von 0 bis 150 mg Galaktose weniger Schleimsäure erhalten wird, wie bei 0 bis 150 mg Galaktose, wenn mit Saccharose bis zu 1000 mg aufgefüllt. Weiter ersehen wir, daß von 150 mg Galaktose an gerade das Umgekehrte stattfindet, bis die beiden Kurven sich natürlich bei 1000 mg Galaktose wieder begegnen.

Für diese Erscheinung habe ich mir folgende Erklärung gedacht:

„Offenbar herrschen hier, bedingt durch das Hinzufügen der Saccharose, zwei einander entgegengesetzte Einflüsse. Die Substanzen, die bei der Oxydierung aus Saccharose gebildet werden, häufen sich, insofern sie nicht flüchtig sind, in der Schleimsäuremutterlauge auf. Auf der einen Seite werden sie die Löslichkeit der Schleimsäure verringern, also die Ausbeute an Schleimsäure erhöhen, auf der anderen Seite werden sie die Schleimsäure am Kristallisieren hindern, also die Ausbeute zu erniedrigen suchen. Bis zu 150 mg Galaktose, also mit viel Saccharose, überwog die Löslichkeitsverringerung. Bei 150 mg Galaktose halten sich beide Einflüsse im Gleichgewichte, und über 150 mg Galaktose, also mit stets geringer werdenden Mengen Saccharose, überwiegt die Kristallisationsverringerung der Schleimsäure.“

Bei 0 mg Galaktose und bei 0 mg Galaktose + 1000 mg Saccharose werden ungefähr dieselben und zwar negative Daten erhalten, der schwachen Löslichkeit der Schleimsäure zufolge. In

beiden Fällen ist — 4 mg gefunden; diese Übereinstimmung ist mehr zufällig.

Für Tabelle II wird auch wohl — 2 oder — 3 mg gefunden.

10. Was den Verlauf der Kurven anbetrifft, bin ich dem Beispiel Creydts (a. a. O.), kleine Unregelmäßigkeiten zu beseitigen, nicht gefolgt, weil hierdurch meines Erachtens nach die Arbeitsfehler nicht richtig demonstriert werden. Es ist nicht tunlich, bei Stufen von 50 zu 50 mg eine Fortsetzung der Kurve in genau demselben Sinne, d. h. eine vollkommene Parabel, zu erhalten. Sie zeigen oft eine plötzliche kleine Richtungsänderung. Das findet auch seinen Ausdruck in den Tabellen, wo aufeinanderfolgende Unterschiede zwischen zwei Stufen von 7 oder 8 oder 9 mg aufgefunden werden (im Anfang bis zu 50 mg Galaktose etwas weniger).

Es kommt hauptsächlich hier auf ihre praktische Brauchbarkeit an. Zwecks Prüfung in dieser Richtung wurde versucht, die Menge Galaktose, die aus Milchzucker abgespalten wird, zu bestimmen. Weil neben Galaktose auch d-Glukose abgespalten wird, ist also die 2. Kurve (mit Saccharose) anzuwenden.

500 mg reiner Milchzucker, also mit 500 mg Saccharose auf 1000 mg gebracht, geben in 3 Bestimmungen resp.: 172,5, 166,5 und 170 mg Schleimsäure, es wurden also gefunden: 259,4, 251,9 und 256,2 mg Galaktose; theoretisch wird 250 mg berechnet.

625 mg Milchzucker, also mit Saccharose auf 1000 mg aufgefüllt, gaben in 3 Bestimmungen: 220, 212 und 218,5 mg Schleimsäure, übereinstimmend mit 321,4, 310 und 319,3 mg Galaktose aus der Tabelle II; theoretisch wird 312,5 mg Galaktose erwartet.

Ein unbedeutender Fehler wird gemacht, indem z. B. bei den 500 mg Milchzucker, also 250 mg d-Galaktose und 250 mg d-Glukose liefernd, mit 500 mg Saccharose, d. i. 250 mg d-Glukose und 250 mg d-Fruktose liefernd, also mit der Summe von 250 mg Galaktose, 500 mg d-Glukose und 250 mg d-Fruktose, gearbeitet wird, und in der Tabelle II mit der Summe von 250 mg d-Galaktose, 375 mg d-Glukose und 375 mg d-Fruktose (die beiden letzteren aus 750 mg Saccharose). Die beiden Versuche unterscheiden sich also hierdurch, daß in dem ersten Versuch im Vergleich zum zweiten Versuche 125 mg d-Glukose statt 125 mg d-Fruktose vorkommen. Das ist ein überaus unwichtiger, aber unvermeidlicher Unterschied.

Diese Methode, Galaktose neben allen Monosacchariden oder nicht Galaktose abspaltenden Polysacchariden zu bestimmen, ist also praktisch von genügender Genauigkeit.

11. Die bei den Kurven angegebenen Zahlen sind die experimentell bestimmten.

Bestimmung der gebundenen Galaktose

Mit einer kleinen Vorbereitung der zu oxydierenden Flüssigkeit ist die Methode auch gut anwendbar zur Bestimmung der Menge Galaktose aus Glukosiden, Galaktosanen usw., die bei Hydrolyse aus diesen erhalten werden.

Wird d-Galaktose als einziges Monosaccharid abgespalten, so wird Tabelle I benutzt. In Fällen, in denen noch andere Monosaccharide abgespalten werden, ist die Tabelle II zu benutzen.

Z. B.: Von einer bestimmten Menge Glukosid ausgehend, wird unter Abzug des Nicht-Saccharidrests des Glukosidmolekels (welche Menge dieser Reste bekannt sein oder bestimmt werden müssen), wieder mit Saccharose auf 1000 mg aufgefüllt.

Obschon bis jetzt kein einziges kristallinisches Glukosid als einfache Substanz, das Galaktose enthält, bekannt ist, habe ich durch mehrere Versuche mit dem Glukosidgemisch, unter dem Namen „Digitonin" bekannt, die Methode für alle Galaktoside ausgearbeitet; sie ist folgende:

„1 oder $^1/_2$ oder $^1/_4$ g wasserfreies oder wasserfrei gedachtes Glukosid oder anderes Galaktosid wird mit etwa 25 ccm 2—5 %iger Schwefelsäure hydrolysiert. Setzt sich, wie dies z. B. bei Saponinen der Fall ist, ein unlösliches oder schwerlösliches Spaltungsprodukt ab, so kann dieses zu gleicher Zeit in bekannter Weise, nach 24 Stunden Stehens, durch Filtration, Auswaschen mit Wasser, Trocknung und Wägung bestimmt werden. Filtrat nebst Waschwasser werden, unter Neutralisierung der Säure mittels Natronlauge, ganz schwach sauer weitgehend eingedampft. Nach genügender Einengung wird nach Abkühlung mit verdünnter Natronlauge sehr schwach alkalisch gemacht. Danach wird sofort, wenn nötig, nach Filtrieren und Auswaschen, auf 30 ccm Flüssigkeit gebracht und unter Hinzufügung von 30 ccm Salpetersäure, 50 %ig, und in dem Falle, in dem neben Galaktose noch andere Monosen abgespalten werden, soviel Saccharose, wie der inzwischen bestimmte Nicht-Zuckerrest (z. B. das Sapogenin) beträgt (also für den Fall, in dem von 1 g Glukosid ausgegangen ist), in einem schräg stehenden Becherglase (hoch etwa 12 cm, Bodendurchmesser etwa 60 mm) in einem siedenden Wasserbade, unter öfterem Umschütteln, eingedampft, bis der Inhalt des Becherglases bis zu einem Ge-

wichte von etwas unter 20 g (19,8—etwa 20) eingeengt ist; jetzt wird abgekühlt. Nach Auffüllen mit Wasser auf 20 g und Hinzufügung von 500 mg reiner trockner Schleimsäure wird die Lösung, bedeckt, während 48 Stunden bei etwa 15° beiseite gestellt, während welcher Zeit öfters umgeschüttelt wird (die letzten Stunden $t = 15°$). Nach 48 Stunden wird die Schleimsäure in dem oben angedeuteten, vorbereiteten Gooch-Tiegel gesammelt und weiter, wie oben angegeben, behandelt.

Aus der Tabelle II wird die mit der gefundenen Menge Schleimsäure übereinstimmende Menge d-Galaktose aufgefunden oder berechnet."

NB. Wenn nicht von 1 g Glukosid, sondern von $^1/_4$ g ausgegangen wird, so muß außer der Menge Saccharose, dem Gewichte des Nicht-Saccharidrestes gleich, noch 750 mg Saccharose der Oxydierungsflüssigkeit zugegeben werden, damit die Totalsumme von 1000 mg Saccharid wieder erreicht wird. Falls von $^1/_2$ g Glukosid ausgegangen wird, beträgt dies 500 mg Saccharose, außer dem Gewicht des Nicht-Saccharidrestes. Falls es zweckmäßig erachtet werden möchte, irgendwo eine kleine Änderung anzubringen, z. B. mehr Hydrolyseflüssigkeit oder alkoholische Säure, so ist das mit der nötigen Überlegung leicht anzubringen. Das ist nicht im voraus für jeden einzelnen Fall anzugeben. Das muß dem Untersucher überlassen bleiben, der in jedem Falle sich richtig davon zu überzeugen hat, daß die angebrachte Änderung gar keinen Einfluß auf das Endergebnis ausüben kann. Jede andere Änderung würde den Wert der Tabellen und Kurven mehr oder weniger beeinträchtigen. Es kommt vor, daß der Nicht-Saccharidrest des Galaktosidmolekels in Wasser löslich ist (im Gegensatz zu Saponinen); für ihre Bestimmung kann man sie aus der saccharidhaltigen Flüssigkeit mit geeigneten Lösungsmitteln ausschütteln. Diese Bestimmung bleibe übrigens dem Untersucher überlassen, weil sie sich in jedem einzelnen Fall nach hierfür bedingten Umständen zu richten hat.

Bemerkung: Obenstehende Bestimmung ist nur für den Fall geltend, in welchem d-Galakturonsäure nicht vorliegt. Um die Galakturonsäure nachzuweisen, kann die Eigenschaft derselben benutzt werden, schon in der Kälte von Brom zu Schleimsäure oxydiert zu werden. Theoretisch wird sie auch nach obenstehender Methode dieselben Mengen Schleimsäure wie Galaktose geben.

5. Quantitative Bestimmung von l-Arabinose als Diphenylhydrazon nach C. Neuberg und J. Wohlgemuth[1])

Neuberg und Wohlgemuth haben die große Schwerlöslichkeit des Arabinosediphenylhydrazons benutzt, die Arabinose neben anderen Monosacchariden, außer einer größeren Menge Mannose, zu bestimmen. Aus Kapitel VI ist ersichtlich, daß ebenso Fukose ein schwerlösliches Diphenylhydrazon gibt.

N. und W. haben die Methode für Harn sowie für Saccharidgemische unter anderem geprüft:

100 ccm einer Lösung, in welcher 1 g Glukose, 1 g Fruktose, 1,5 g Xylose, 0,5 g Glukuron und 1,0066 g Arabinose gelöst sind, wurden auf 30 ccm eingedampft und während $^1/_2$ Stunde mit 6 g Diphenylhydrazin, in 50 ccm 96%igem Alkohol gelöst, erhitzt, unter Hinzufügung des verdunsteten Alkohols. Nach 24 Stunden wurde in einem Goochschen Tiegel mittels der Mutterlauge alles abgeschiedene Hydrazon gesammelt, mit 50 ccm 50%igem Alkohol gewaschen, dann getrocknet und gewogen. Es wurden 2,1143 g Hydrazon = 1,0035 g Arabinose gefunden, d. h. 99,7% der Arabinose. Hydrazon × 0,4747 = Gewicht Arabinose. Ist weniger als 1% Arabinose vorhanden, so soll die Lösung konzentriert werden.

Prüfung:

100 mg l-Arabinose + 100 mg Xylose + 100 mg d-Fruktose + 500 mg Kartoffelsirup wurden in 5 ccm Wasser gelöst und während $^1/_2$ Stunde mit 800 mg Diphenylhydrazin und 10 ccm 96%igem Alkohol erhitzt. Nach 24 Stunden wurde wie oben gesammelt und das Hydrazon mit 8 ccm 50%igem Alkohol mittels der Pumpe gewaschen. Dann wurde bei 100° getrocknet und nach Abkühlung gewogen.

Gefunden: 214,5 mg Hydrazon = 101,8 mg Arabinose, statt 100 mg.

Ein kleiner Überschuß wird wohl aus dem Kartoffelsirup mittels des Alkohols niedergeschlagen sein.

Schlußbetrachtung:

Auch in mehr oder weniger verunreinigter Lösung ist es ein sehr gutes Bestimmungsmittel für Arabinose,

[1]) Z. physiol. Chem. **35**, 31—40 (1902).

bei Abwesenheit von Mannose und Fukose. Immerhin bleibt die Möglichkeit bestehen, daß in sehr verunreinigter Lösung ein Teil des Hydrazons nicht auskristallisiert; in diesem Falle wird also ein zu wenig gefunden. Die Pentosanbestimmung kann in vielen Fällen als Kontrollbestimmung herangezogen werden.

6. Quantitative Bestimmung der d-Mannose als Phenylhydrazon nach Bourquelot und Hérissey[1])

B. und H. machten einige Versuche mit reiner Mannose und mit Galaktose oder Arabinose oder Maltose gemischt und erhielten gute Resultate, z. B. 1 g Mannose in 16,6 ccm Wasser gelöst wurde mit einer Lösung aus 1,2 ccm Phenylhydrazin, 1,2 ccm Eisessig und Wasser auf 6 ccm während 8 Stunden aufeinander einwirken gelassen.

Das Hydrazon wurde auf einem kleinen Trichterchen gesammelt und mit 15 ccm eiskaltem Wasser, 10 ccm absol. Alkohol, dann mit 10 ccm Äther gewaschen und in luftverdünntem Raume über Schwefelsäure getrocknet. Es wurden 1,490 g gefunden (theor. 1,5 g), also Differenz 0,66 %.

Die Kölbchen, in welchen die Flüssigkeiten gemischt werden, sollen ganz damit aufgefüllt sein.

Bemerkung: Es ist hier, wie bei der Arabinosebestimmung als Diphenylhydrazon bei 5, von Vorteil einen Goochschen Tiegel mit ausgewaschenem und geglühtem Asbest zu wählen statt des Trichterchens. Das ist auch bequemer. Das bei Arabinose unter 5 geschriebene gilt auch hauptsächlich hier; nur ist die Verbindung für Mannose hier spezifischer.

B. und H. (a. a. O.) schreiben noch, daß bei niedriger Temperatur und mit 3—6 %igen Mannoselösungen gearbeitet werden soll. Falls die Lösungen verdünnter vorliegen, muß bei der aufgefundenen Menge Hydrazon noch 40 mg für jede 100 ccm Lösung zugezählt werden.

1 g Mannose gibt theoretisch 1,5 g Hydrazon.

---

[1]) E. Bourquelot und H. Hérissey, Sur le dosage du mannose mélangé à d'autres sucres. C. R. **129**, 339—341 (1899).

B. Bestimmung zweier Monosaccharide nebeneinander

Wir wollen uns den Fall denken, daß zwei Monosaccharide vorliegen, welche qualitativ bekannt sind, welche aber auch ihren Mengen nach zu bestimmen sind. Das kann nach folgenden Methoden geschehen:

I. Die allgemeine Methode

Diese Methode ist für alle Fälle dienlich, es sei daß Pentosen, Methylpentosen oder Hexosen vorliegen.

Sie besteht aus einer Bestimmung der α_D und aus einer der Reduktion mit Fehlingscher Lösung, entweder nach der Allihnschen oder nach der Fehling-Lehmann-Schoorlschen Methode. Wir haben also 2 Unbekannte x und y und zwei Bekannte. Aus den zwei Gleichungen können die 2 Unbekannten bestimmt werden.

Browne[1]) hat in diesem Sinne eine Methode ausgearbeitet und zwar nach dem Prinzip, daß reduzierende Saccharide, welche aus Fehlingscher Lösung dieselben Kupfermengen abscheiden, unter sich in konstanten Verhältnissen stehen.

Dieses Prinzip ist zwar nicht richtig. Wir wissen ja, daß die Reduktionsverhältnisse nicht konstant sind. Beim Umrechnen der Schoorlschen Tabelle z. B. wird uns das ohne Weiteres klar. Die nicht-konstanten Verhältnisse werden ja durch die verwickelten Fehlingschen Reaktionsprozesse verursacht. Gerade durch die nicht-konstanten Verhältnisse sind die empirischen Tabellen nach Allihn sowie nach Schoorl nötig geworden.

Jedoch braucht die von Browne (a. a. O.) ausgearbeitete Methode gar nicht zu versagen, weil die Differenzen, welche durch die nicht-konstanten Verhältnisse hervorgerufen werden, praktisch ohne oder von geringem Einfluß sind, wenn wir uns mit dem mittleren Reduktionsverhältnis, welches dann als ein konstanter Faktor zu betrachten ist, begnügen wollen, wie wir weiter an einem praktischen Beispiele erfahren werden.

Browne (a. a. O.) befolgt für die Bestimmung der Reduktion die Allihnsche Methode. Weil die in diesem Buche bereits beschriebene Fehling-Lehmann-Schoorlsche Methode viel schneller, einfacher und ebenso gut ist, wie die Allihnsche, wird sie hier benutzt werden. Die Methode hat überdies noch den Vorteil für

---

[1]) C. A. Browne, The analysis of sugar mixtures. Journ. Am. 28, 439—453 (1906).

sieben Monosaccharide ausgearbeitet, und mit Tabellen versehen zu sein, aus welchen mit Leichtigkeit die mittleren Reduktionsverhältnisse in bezug auf d-Glukose berechnet werden können. Von Browne (a. a. O.) ist das nach der Allihnschen Methode nur für vier Monosaccharide bestimmt worden. Aus der Schoorlschen Tabelle ist leicht das Reduktionsverhältnis bei 1 ccm $^1/_{10}$ n. Thio und bei 25 ccm $^1/_{10}$ n. Thio zu berechnen. Die Mittelwerte werden wir als a und b in den Browneschen Formeln benutzen.

Die Reduktionsverhältnisse sind:

d-Fruktose: d-Glukose . .	$= \frac{1}{0{,}944}$	0,972 im Mittel
d-Galaktose: „ . .	$= \frac{0{,}97}{0{,}931}$	0,95 „ „
d-Mannose: „ . .	$= \frac{1{,}032}{0{,}972}$	1 „ „
l-Arabinose: „ . .	$= \frac{1{,}067}{1{,}011}$	1,0385 „ „
Xylose: „ . .	$= \frac{1{,}032}{0{,}972}$	1 „ „
Rhamnose (wasserfrei): d-Glukose.	$= \frac{1}{0{,}962}$	0,981 „ „

Die mittleren Verhältnisse weichen nur wenig von den Allihnschen nach Browne ab.

Für Fukose und für d-Glukuron ist die Schoorlsche Tabelle noch nicht ausgearbeitet. Browne (a. a. O.) gibt nun folgende 2 Formeln:

$$\text{I. } ax + by = R.$$
$$\text{II. } \alpha x + \beta y = P.$$

Aus I und II wird: $x = \frac{bP - \beta R}{\alpha b - a\beta}$ und $y = \frac{R - ax}{b}$.

x = % Monosaccharid A.
y = „ „ B.
a = mittleres Reduktionsverhältnis von A, auf Glukose bezogen
b = mittleres Reduktionsverhältnis von B, auf Glukose bezogen
R = total % Monosaccharid, auf d-Glukose berechnet

α = Polarisationsfaktor von A $= \frac{\alpha_D \text{ von A}}{\alpha_D \text{ Saccharose}}$

β = Polarisationsfaktor von B $= \frac{\alpha_D \text{ von B}}{\alpha_D \text{ Saccharose}}$

P = Polarisationszahl des Gemisches = % Saccharid des Gemisches auf Dextrose bezogen $\times \frac{\alpha_D \text{ Gemisch}}{\alpha_D \text{ Saccharose}}$

Wenn wir nun diese Werte in beiden Gleichungen anbringen, erfahren wir, daß schließlich die α_D Saccharose gänzlich ausfällt. Wir erhalten alsdann folgende, einfachere Gleichungen, welche wir fortan benutzen werden:

$$\text{I. } x = \frac{(b \times \alpha_D \text{ Gemisch} - \alpha_D \text{ B}) \times \% \text{ als Dextrose}}{b \times \alpha_D \text{ A} - a \times \alpha_D \text{ B}}$$

$$\text{II. } y = \frac{\% \text{ als Dextrose} - ax}{b}$$

Die a, b, α_D A und α_D B sind bekannt, es bleiben also zu bestimmen α_D Gemisch und % als Dextrose.

Folgendes Beispiel, das mit anderen zu vermehren ist, möge die praktische Brauchbarkeit der Methode demonstrieren.

Beispiel:

200 mg l-Arabinose + 500 mg Xylose wurden mit Wasser von 15° zu 10 ccm aufgefüllt.

½ ccm wurde in duplo nach Fehling-Lehmann-Schoorl als d-Glukose titriert (siehe S. 121).

Blinder Versuch: 26,07 und 26,07 ccm $^1/_{10}$ n. Thio
Versuch: 15,07 „ 15,07 „ $^1/_{10}$ „ „

Verbraucht 11 ccm = 35,7 mg d-Glukose = 7,14%.

α_D im Laurentschen Apparat war im Mittel aus mehreren Ablesungen 3,1, also $\alpha_D = \frac{100 \times 3{,}1}{7{,}14} = 43^0{,}42$

Also wird:

$$x = \frac{(1 \times 43{,}42 - 19) \times 7{,}14}{1 \times 104{,}5 - 1{,}0385 \times 19} = 2{,}06\,\% \text{ Arabinose (ber.: } 2\,\%)$$

$$y = \frac{7{,}14 - 1{,}0385 \times 2{,}06}{1} = 5\,\% \text{ Xylose (ber.: } 5\,\%)$$

2. Eine Pentose neben einer Hexose

Außer nach der allgemeinen Methode von 1, kann die Pentose nach der Pentosanbestimmung, im Kapitel III, quant. Teil beschrieben, bestimmt werden. l-Arabinose oder Xylose werden der Kröberschen Tabelle entnommen.

In einer zweiten Bestimmung wird die Hexose nach der Gärprobe in Kapitel IV, quant. Teil, nach Lohnstein oder nach Kluyver bestimmt.

3. Eine Pentose neben einer Methylpentose

Außer nach der allgemeinen Methode von 1 können beide nach der Pentosanbestimmung im Kapitel III, quant. Teil bestimmt werden. Nach Trennung der Phlorogluzide mittels Alkohol ist der Kröberschen Tabelle die Menge l-Arabinose und Xylose, aus der Ellettschen die Menge Rhamnose, aus der Mayerschen die Menge Fukose zu entnehmen.

4. Eine Methylpentose neben einer Hexose

Hier gilt das bei 2 geschriebene. An Stelle der Kröberschen wird hier die Ellettsche und die Mayersche benutzt.

5. Eine Pentose neben einer anderen Pentose

Dies kann nur nach der unter 1 gegebenen Methode geschehen. l-Arabinose und Xylose.

6. Eine Methylpentose neben einer anderen Methylpentose

Hier gilt das bei 5 Gesagte. Als eine annähernde Rhamnosebestimmung dürfte die Schleimsäurebestimmung nach Votoček und Potměšil[1]) gelten können.

Rhamnose wird mit einigen Tropfen Ammoniak und 2 Mol. Blausäure mittlerer Konzentration behandelt. Nach 24 Stunden wird das Übermaß an Blausäure durch Kochen vertrieben und die entstandene Verbindung mittels Natrons verseift. Wenn der Ammoniak verschwunden ist, wird die Flüssigkeit bis zur Trockenheit verdampft, in 60 ccm Salpetersäure (sp. Gew. 1,15) gelöst und auf $^1/_3$ Volumen eingeengt. Die gebildete α-Rhamnohexonsäure wird zu Schleimsäure oxydiert. Nach 48 Stunden wird sie gesammelt usw.

100 Tl. Rhamnose = 45,5 Tln. Schleimsäure

V. und P. (a. a. O.) geben an, daß bei Gegenwart von Rhodeose die Ergebnisse weniger konstant sind. Kleinere Mengen Rhamnose neben viel anderen Sacchariden sind weniger genau bestimmbar. d-Galaktose, d-Galakturon- und Aldehydschleimsäure geben bekanntlich gleiche Reaktion mit Salpetersäure.

Die Methode wird wohl etwas präziser ausgearbeitet und mit Tabellen versehen werden müssen wie das für d-Galaktose geschehen ist. Auch hier herrschen keine konstanten Verhältnisse.

---

1) E. Votoček und R. Potměšil, Bull. (4) **15**, 634—639.

7. Eine Hexose neben einer anderen Hexose

Außer nach der allgemeinen Methode von 1. kann d-Glukose, d-Fruktose oder d-Mannose neben d-Galaktose mit Preßhefe im Lohnsteinschen Apparate nach quant. Teil, Kapitel IV bestimmt werden. Und dann d-Galaktose nach Kluyver mit Laktosehefe und anderen dort genannten Hefen. d-Galaktose kann auch neben anderen nach der Schleimsäuremethode auf S. 123 bestimmt werden.

d-Glukose—d-Mannose oder d-Glukose—d-Fruktose oder d-Mannose—d-Fruktose können nur nach der unter 1. beschriebenen Methode bestimmt werden.

C. Bestimmung dreier Monosaccharide nebeneinander

Weil nicht jede Kombination dreier Saccharide in bequemer Weise bestimmt werden kann, werden hier einige Dreizahlen behandelt.

1. l-Arabinose oder Xylose, Rhamnose oder Fukose und d-Glukose oder d-Mannose oder d-Fruktose oder d-Galaktose

l-Arabinose oder Xylose und Rhamnose oder Fukose werden nach der Pentosanbestimmung (quant. Teil, Kapitel III) abgeschieden und getrennt. Tabellen von Kröber, von Ellett und von Mayer. In einer anderen Bestimmung nach der Gärprobe im quant. Teil, Kapitel IV, die d-Glukose, d-Fruktose, d-Mannose oder d-Galaktose.

So sind verschiedene Kombinationen in vorliegenden Fällen nach den Kapiteln III und IV zu bestimmen.

2. Glukuronsäure und ein oder mehrere Monosaccharide

Glukuronsäure verhält sich bei der Pentosanbestimmung und Gärprobe wie eine Pentose und kann also auf C verwiesen werden. 1 Furfurolphlorogluzid = 3 Glukuron.

D. Quant. Bestimmung von Aldosen neben Ketosen

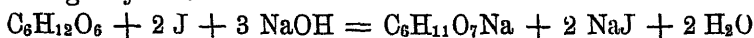
1. Methode von G. Romijn[1])

Diese Methode stützt sich auf die Tatsache, daß die Aldosen im Gegensatz zu den Ketosen, von Jod unter bestimmten Umständen

---

[1]) G. Romijn, Über eine jodometrische Zuckerbestimmung. Anal. Ch. 36, 349—359 (1897).

oxydiert werden. Indem die Ketosen praktisch unangegriffen bleiben, werden die Aldosen hauptsächlich nach untenstehender Gleichung oxydiert:

$$C_6H_{12}O_6 + 2\,J + 3\,NaOH = C_6H_{11}O_7Na + 2\,NaJ + 2\,H_2O$$

Aldose — Glukons. Natrium

also 1 ccm $^1/_{10}$ n. Jod = 9 mg Glukose.

Romijn benutzte nicht Natronlauge, jedoch das alkalisch reagierende Borax, das gute Resultate gab.

Seine Borax-Jodlösung wird wie folgt hergestellt:

1 Teil Borax wird in 1 Teil Wasser gelöst, nach Abkühlung die konzentrierte Jodlösung hinzugefügt und dann mit Wasser zu einem bestimmten Volumen aufgefüllt.

25 ccm der Lösung sollen 1 g Borax und so viel Jod enthalten, daß sie nach Ansäuerung 30—33 ccm $^1/_{10}$ n. Thiosulfat zur Entfärbung verlangen.

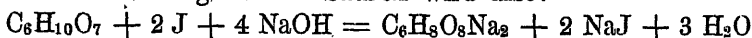
Es sollen Temperatur, Zeit und Zuckermenge beachtet werden.

Wenn t = 25° C ist, erachtet Romijn die Oxydierung in 35 bis 50 ccm Flüssigkeit in 16—22 Stunden abgelaufen, indem alsdann 97,76—99,47% wiedergefunden wurden. Die Bestimmung geschah in einem Thermostaten bei 25° C. Galaktose, Arabinose, Xylose und Rhamnose verhielten sich „im großen und ganzen" wie die Glukose.

Nach R. gibt es noch andere Substanzen, welche von Boraxjod angegriffen werden, an erster Stelle die jodoformerzeugenden.

Von größerer Wichtigkeit sind in dieser Hinsicht zwei Substanzen, von welchen um jene Zeit noch keine Rede war, welche aber als Aldehydsäuren ebenso von Boraxjod angegriffen werden; es sind die Glukuron- und die Galakturonsäure. Ein Jodverschwinden deutet also auf Aldosen oder diese Säuren oder auf beide hin.

Die Gleichung für die Säuren wird also:

$$C_6H_{10}O_7 + 2\,J + 4\,NaOH = C_6H_8O_8Na_2 + 2\,NaJ + 3\,H_2O$$

Glukurons. oder Galakturons. — Zuckersaures Natrium oder Schleimsaures Natrium

Also 1 ccm $^1/_{10}$ n.-Jod = 9 mg Aldohexose = 7,5 mg Aldopentose = 8,2 mg Aldomethylpentose = 9,7 mg Aldehydsäure.

Nach Romijn (a. a. O.) werden auch in Gemischen aus Glukose und Fruktose brauchbare Resultate erhalten, nämlich 97,81 bis 108,23%.

Ausführung:

In ein enghalsiges Fläschchen (mit hohem Stopfen) werden die Zuckerlösung und 25 ccm Boraxjodlösung hineinpipettiert. Der Stopfen wird aufgesetzt und dieser mit Bügel versehen, indem zwischen Flaschenrand und Stopfen ein Tropfen Wasser gebracht wird. Nach 15—22stündigem Verbleiben im Thermostaten bei 25° wird nach Abkühlung mit 1,5 ccm 25%iger Salzsäure angesäuert und das Jod mit $^{1}/_{10}$ n. Thio titriert. Ebenso wird der Kontrollversuch titriert und die Differenz notiert.

Ich äußerte mich gegenüber Dr. Romijn, daß es in manchen Laboratorien nicht leicht sein würde, den Thermostaten 16—22 Stunden lang zu erhitzen, nämlich während der Nacht. Dr. R. meldete mir brieflich, daß in diesem Falle ein auf Temperatur gebrachter isolierter Wasserbehälter von großer Kapazität genügend abzuhelfen imstande sei; sinkt die Temperatur allmählich auf 23°, so ist es erlaubt, etwas länger einwirken zu lassen.

Willstätter und Schudel[1]) finden die Romijnsche Methode zu umständlich und nicht ganz exakt. Sie nehmen die Methode mit Hypojodit aus Jod und Natronlauge auf, mit welcher Romijn (a. a. O.) keine guten Resultate erhielt. Siehe die Methode unter 3. dieses Abschnittes.

2. Abänderung der Romijnschen Methode nach J. Bougault

Im Jahre 1917 hat Bougault[2]) eine Methode beschrieben, Aldosen neben Ketosen mittels mit Karbonat alkalisierter Jodlösung zu bestimmen. Kurze Zeit danach erkannte B.[3]) diese Methode als eine Abänderung der Romijnschen.

Bougault (a. a. O.) erachtet seine Methode einfacher, weil keine 18stündige Erwärmung nötig ist, und genauer, weil Romijn nicht einer „réaction parasite" Rechnung getragen hat und weiter Bougault seine Ergebnisse genauer findet. Dr. Romijn schreibt mir, er habe das Natriumkarbonat als Alkali ebenso versucht, wobei er zwar einen schnelleren Reaktionsverlauf konstatierte, jedoch mehr Nebenreaktionen stattfinden.

---

[1]) R. Willstätter und G. Schudel, Bestimmung von Traubenzucker mit Hypojodit. Ber. 51, 780 (1918).

[2]) J. Bougault, Nouv. méthode de dosage des sucres aldéhydiques. J. Ph. Ch. 16, 97—110 (1917).

[3]) Idem., J. Ph. Ch. 16, 313—314 (1917).

Arbeitsweise nach Bougault

Zu 25 ccm Glukoselösung (250 mg Glukose enthaltend) werden 50 ccm Jodlösung (1 ccm = 20 mg Jod), dann 50 ccm einer 15%igen Natriumkarbonatlösung hinzugegeben. Diese Reihenfolge soll stets benutzt werden.

Jedesmal werden 25 ccm in Kölbchen, mit Glasstopfen versehen, gebracht und nach 30, 60, 120 usw. Minuten, das Übermaß Jod nach Ansäuerung mit Salzsäure mit Thiosulfat zurücktitriert. (Thio = ungefähr 10 g Natriumthiosulfat pro Liter und genau titriert).

Nach 30 Minuten ist nach B. die Reaktion beendet (bei Mannose nach 90 Minuten). Es findet aber während dieser 30 Minuten im weiteren Verlauf eine geringe Jodabsorption infolge einer „réaction parasite" statt.

Es ist also erforderlich, den fast konstanten Unterschied zwischen den Titrationen nach 30, 60 usw. Minuten von den gefundenen Mengen absorbierten Jods in Abzug zu bringen. B. fand jedoch, daß die „réaction parasite" während der ersten 30 Minuten am stärksten ist und dann abnimmt. Aus mehreren Versuchen fand er, daß dies $^1/_5$ des gefundenen Unterschieds zwischen den Titrationen nach 30 und nach 60 Min. usw. beträgt.

Z. B. fand B. in obenstehendem Versuch:

	mg absorb. J.	Unterschied
Nach 30 Min. .	. 71,00	0,4 per 30 Min.
„ 60 „ .	. 71,40	0,7 „ 60 „
„ 120 „ .	. 72,10	0,6 „ 60 „
„ 180 „ .	. 72,70	

Weil die Reaktion praktisch nach 30 Min. abgelaufen war, nahm B. 71 mg an, vermindert mit 0,4 mg und noch mit $^1/_5 \times 0,4 = 0,08$ mg, also im ganzen mit 0,48 mg. Es wurden also gefunden $71 - 0,48 = 70,52$ gebundenes Jod = 0,2498 g Glukose (theoretisch 250 mg).

Bougault (a. a. O.) fand dieselbe Wirkung bei Arabinose, Mannose, Galaktose, Maltose und Laktose (nur bei Mannose 90 Min.).

Was die Ketosen anbelangt, fand Bougault, daß hierbei nicht mehr Jodium absorbiert wird, wie durch die „réaction parasite" verursacht wird (verursacht durch die Alkoholfunktion der Zucker).

Betrachtung der Reaktion:

Es gelang mir nicht, solche guten Ergebnisse, wie Bougault erhielt, zu erhalten.

25 ccm Lösung, in welcher 100 mg Fruktose und 150 mg Glukose gelöst sind, wurden mit 50 ccm Jodlösung (nach Bougault 10 ccm war = 16,83 ccm $^1/_{10}$ n. Thio) gemischt und dann 50 ccm 15 %ige Natriumkarbonatlösung hinzugefügt. Sofort wurden jedesmal 25 ccm in Kölbchen gebracht und nach 30, 60, 90 und 120 Min. titriert mit $^1/_{10}$ n. Thio nach Ansäuerung mit 1,5 ccm HCl ($12^1/_2$ %). Bei einem Versuch fand ich erst nach 120 Min. mit der Theorie fast übereinstimmende Daten, nämlich:

	$^1/_{10}$ n. Thio	absorb. Jod
Nach 30 Min.	14,11 ccm	20,8 mg
„ 60 „	13,37 „	29,2 „
„ 90 „	12,9 „	36,2 „
„ 120 „	12,6 „	40 „
(theoret. 30 mg d-Glukose)		= 28,3 „ Glukose.

Bei einem anderen Versuche mit derselben Zuckerlösung fand ich wieder folgendes:

	$^1/_{10}$ n. Thio
Nach 30 Min.	13,2 ccm
„ 60 „	12,9 „
„ 90 „	13 „
„ 120 „	13 „

Hier wurden nach 60 Min. konstante Ergebnisse erhalten und blieben die weiteren Ergebnisse konstant, also ohne eine „réaction parasite“ bemerkbar zu machen. Doch stimmen die Daten „nach 30 Min.“ besser mit der Theorie überein (nämlich = 31,85 mg Glukose statt 30 mg) wie „nach 60 Min.“ = 35,37 mg. Nach 30 Minuten ist die Reaktion also praktisch beendet.

Bei einem dritten Versuche mit derselben Lösung fand ich ebenso keine „réaction parasite“ und war die Reaktion nach 30 Min. beendet:

	$^1/_{10}$ n. Thio
Nach 30 Min.	13 ccm
„ 60 „	13 „
„ 90 „	12,95 „
„ 120 „	13 „

Also wurden gefunden 34,47 mg Glukose statt 30 mg. Es wurden also die fast theoretischen Bougaultschen Ergebnisse nicht erreicht, wohl aber noch ziemlich brauchbare Resultate. Wodurch das verursacht wird, wurde mir nicht klar.

Dr. Romijn meldete mir, er habe zur Zeit seiner Methode im Jahre 1897 auch das Natriumkarbonat benutzt; die Reaktion verlief zwar schneller, aber es traten viel mehr Nebenreaktionen auf; Borax genüge viel besser.

Schließlich wurde noch ein Versuch mit 250 mg Glukose gemacht, wie ihn Bougault (a. a. O.) anstellte. Auch hier war nicht nur von einer „réaction parasite" keine Rede, sondern verlief die Oxydation so schnell, daß innerhalb einer halben Stunde schon ein Zuviel an Glukose erhalten wurde.

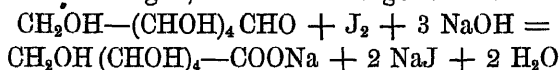
	$^1/_{10}$ n. Thio
Nach 30 Min. . . .	10,7 ccm
„ 60 „ . . .	10,7 „
„ 90 „ . . .	10,7 „
„ 120 „ . . .	10,7 „

Die anwesende Menge Jod verlangte vor der Einwirkung 16,83 ccm $^1/_{10}$ n. Thio, also verbraucht 6,13 ccm $^1/_{10}$ n. = 6,13 ccm $^1/_{10}$ n. Jod = 6,13 × 9 mg Glukose = 55,17 mg statt 50 mg. Im allgemeinen wird also nach 30 Minuten ein ungefähr genauer Wert erhalten.

Als langsam wirkendes Alkali ist Borax als besser zu empfehlen.

3. Methode von Willstätter und Schudel (a. a. O.)

W. und Sch. sagen, daß der richtige Verlauf der Reaktion:

$$CH_2OH—(CHOH)_4CHO + J_2 + 3\ NaOH =$$
$$CH_2OH(CHOH)_4—COONa + 2\ NaJ + 2\ H_2O$$

von der richtigen Alkalikonzentration und -Menge abhängig ist.

Ausführung und Besprechung:

Die Glukoselösung wird mit ungefähr dem Doppelten (mit dem anderthalb- bis vierfachen) der erforderlichen Menge Jod in $^1/_{10}$ n. Lösung versetzt; man läßt bei Zimmertemperatur unter gutem Umschütteln das anderthalbfache von $^1/_{10}$ n. Natronlauge (aus reinem Alkali) zutropfen und 12—15 Minuten lang, bei sehr geringer Zuckermenge, besser 20 Minuten, stehen. Dann säuert man mit verdünnter Schwefelsäure schwach an und titriert mit Thiosulfat bei Gegenwart von Stärke zurück.

W. und Sch. erhielten bei einer Konzentration von 1% Glukose und Mengen von z. B. 100 mg als größten Fehler 0,1 mg, der durchschnittlich einige hundertstel Prozent der Substanz betrug;

bei 0,1 %iger Glukose und Mengen von 10 mg blieb der Fehler in den einzelnen Bestimmungen unter 1,5 %.

W. und Sch. erachten es von Vorteil, daß bei ihrer Methode Rohrzucker kein Hypojodit verbraucht, während er nach Romijn durch Borax-Jodlösung stark oxydiert wird. Ebenso wird unter den Versuchsbedingungen Fruktose, die auch gegen Borax-Jod nahezu beständig ist, nicht angegriffen. W. und Sch. erachten daher die Hypojoditmethode zur Bestimmung von Aldehydzucker neben Fruktose oder Saccharose geeignet.

Weil mir diese Methode erst zu Gesicht kam während der Drucklegung dieses Buches, fehlte mir die Zeit, diese Methode unter verschiedenen Bedingungen nachzuprüfen, und wurde sie daher ohne weiteres wiedergegeben.

Kapitel VI

A. Die Bildungsweisen, Schmelzpunkte, Eigenschaften und der Identifizierungswert der Hydrazone und Hydrazide der Monosaccharide und der d-Glukuronsäure

Weil die Bildungsweisen, Schmelzpunkte, Eigenschaften usw. der Hydrazone und Osazone für unseren Zweck von fundamentaler Bedeutung sind, und die Literatur nicht immer unzweideutige Anhaltspunkte gibt, ist es wünschenswert, sie ausführlich zu behandeln, durchzuprüfen und einige neue Verbindungen einzuführen, sowie Schmelzpunkte nach uniformer, in Kap. II beschriebener Methode zu bestimmen.

Bemerkungen:

Die Bildungsweisen sind für Mengen von 1/4 oder 1/2 g Monosaccharid, einige Ausnahmen nicht mitgerechnet, angegeben.

Demzufolge ist also die Bildung oder Nicht-Bildung, die Ausscheidung oder Nicht-Ausscheidung irgend eines Monosaccharidhydrazons oder -Osazons mit diesen Mengen studiert, zu gleicher Zeit unter Benutzung einer bestimmten Menge eines Lösungsmittels unter bestimmten Bedingungen.

Die Möglichkeit, daß in einem negativen Falle bei 250 mg Saccharid, ein Hydrazon bei Anwendung größerer Mengen zum Teile aus der Flüssigkeit sich ausscheidet, bleibt bestehen, obgleich es nicht sehr wahrscheinlich ist.

So viel wie möglich sind bei der Identifizierung die genannten Mengen Saccharid und Lösungsmittel innezuhalten. Das ist praktisch unschwer zu erfüllen. Hiermit soll natürlich nicht behauptet werden, daß per se andere Ergebnisse erhalten werden, wenn mit anderen Mengen gearbeitet wird. Obengesagtes bezweckt nur, auf dessen Möglichkeit aufmerksam zu machen. Jedem, der auf experimentell-chemischem Gebiete gearbeitet hat, ist das übrigens genügend bekannt.

Weiter soll die Kristallisationsdauer, wie angegeben, innegehalten werden.

Wenn z. B. angegeben ist, daß ein Hydrazon sich in 24 Stunden nicht ausscheidet, kann es vorkommen, daß nach längerer Dauer eine Ausscheidung beginnt; das kommt in Wirklichkeit vor. Die genannte Bedingung ist leicht zu erfüllen.

Die Kristallisationen fanden bei gewöhnlicher Temperatur statt. Nur in zweifelhaften Fällen kann die Temperatur bedeutend erniedrigt werden.

Das d-Glukuronsäurelakton wurde durch Hydrolyse von Euxanthinsäure mittels sehr verdünnter Schwefelsäure im Autoklaven erhalten. Aus 40 g Euxanthinsäure wurden 1,7 g reine d-Glukuronkristalle erhalten.

Es wurde nicht zu ermitteln versucht, ob das d-Glukuron alle möglichen Hydrazone und Osazone zu bilden imstande ist oder alle möglichen Bildungsweisen durchgeprüft und die Versuchsbedingungen ermittelt, nach welchen sich ein Hydrazon oder Osazon abtrennt. Für die Identifizierung der d-Glukuronsäure und für ihre Unterscheidung und Trennung von den Monosacchariden ist es ausreichend, zu ermitteln, ob unter bestimmten Bedingungen irgend ein Hydrazon oder Osazon gebildet und ausgeschieden wird und zwar unter den Bedingungen, welche bei den Monosacchariden angegeben sind.

Um ein Beispiel zu nennen: Die Phenylhydrazone der Monosaccharide werden aus wässeriger Lösung erhalten; d-Mannose unterscheidet sich dabei durch die Kristallisation aus verdünnter Lösung; es war also eine für sie spezifische Reaktion. Es wird nun bei d-Glukuron nur ermittelt, ob sich unter diesen Bedingungen ein Hydrazon ausscheidet. Ebenso wurde bei den übrigen Hydrazonen und Osazonen unter den bei Monosacchariden gegebenen Bedingungen gearbeitet.

Wir wissen also gegebenenfalls, ob die Gegenwart von d-Glukuron störend oder irreführend wirkt, und wenn ja, in welcher Weise Monosaccharid und d-Glukuron nachgewiesen und getrennt werden können.

a) Phenylhydrazone

1. l-Arabinose-phenylhydrazon

Lit.: Chavanne[1]) erhitzte eine Lösung aus 1 Mol. Arabinose und 20 Tln. W. + 25 Tln. A. mit 1 Mol. Phenylhydrazin während 20 Min. auf 100°. Es bildeten sich farblose Kristalle vom Schmelzpunkt 150°—151°.

---

[1]) G. Chavanne, Sur quelques dérivés de l'arabinose. C. R. 134, 661 (1902).

Tanret[1]) erhitzt 1 Teil Arabinose mit 1 Teil W. und dem Doppelten der theoretischen Menge Phenylhydrazin während 20 Minuten im Wasserbade. Das Übermaß Hydrazin wird mit Äther ausgeschüttelt. Nach Sammlung und Abwaschung mit Benzin und mit Wasser wird das Hydrazon aus 8 Tln. heißem absol. A. umkristallisiert. T. erhielt farblose Nädelchen, welche am „Bloc Maquenne" bei 153° C schmelzen.

Eigenschaften: Löslich in 75 Tln. abs. A. bei 15°, in 30 Tln. 90%-A. und 85 Tln. W. α_D (in 80%-A.) = + 2,5°.

Darstellung und Schmelzpunkt:

½ g Arabinose in ½ g W. gelöst, wurde nach Abkühlung mit ½ g reinem Phenylhydrazin gemischt. Nach einiger Zeit schied sich ein farbloses Hydrazon aus, das auf einem Saugfilterchen gesammelt, wieder in wenig A. gelöst, durch Hinzufügung einiger Teile Ä. wieder zur Kristallisation gebracht wurde. Wieder gesammelt, mit Ä. abgewaschen, und getrocknet, war der Schmelzpunkt 1. Bestimmung 147°, 2. Bestimmung 149°, 3. Bestimmung 149° bis 150°. Nach Umkristallisierung aus sehr wenig abs. A.: 1. Bestimmung 150°—151°, 2. Bestimmung 151°—152°. Nach Umkristallisierung aus sehr wenig W., farblose, lose Nädelchen, Schmelzpunkt 152°—153°, also der Chavannesche und Tanretsche Schmelzpunkt.

Der Schmelzpunkt ist also 152°—153°.

2. Xylose-Phenylhydrazon

Lit: Tanret (a. a. O.) erhielt dieses Hydrazon als sehr leicht lösliche Kristalle vom Schmelzpunkt 116°. G. Bertrand[2]) ließ eine Lösung von 5 g Xylose in 3 ccm W. auf 4 g Phenylhydrazin einwirken. Nach 1 Stunde wurden 10 ccm. abs. A. hinzugefügt und in Luftverdünnung über Schwefelsäure eingetrocknet. Das Übermaß Hydrazin wurde verdunstet und der Rückstand in 15 ccm abs. A. gelöst und filtriert. Nach Abkühlung schieden sich Kristalle aus. Nach einmaliger Umkristallisierung wurde ein farbloses, in Lamellen kristallisierendes Hydrazon erhalten mit dem Schmelzpunkt (Bloc Maquenne) 116°.

Darstellung:

Nach der bei „Arabinose" beschriebenen Weise kristallisiert wegen der großen Löslichkeit kein Hydrazon aus. Sie unterscheidet sich in dieser Hinsicht von vielen anderen Monosacchariden. Ihre Hydrazonbildung ist also für unseren Zweck wertlos.

---

[1]) C. Tanret, Sur l'extraction des sucres réducteurs (monoses). Bull. Sér. III, 27, 392—398 (1902).

[2]) G. Bertrand, Thèse. Paris 1894.

3. Rhamnose-Phenylhydrazon

Lit.: Rayman[1]) ließ eine konzentrierte Rhamnoselösung (1 auf 5) auf das Hydrazin-Salzsäure-Natriumacetat im Wasserbade einwirken. Das erhaltene Produkt schmolz bei 171°. Wie Rayman[2]) später angibt, war kein reines Hydrazon erhalten; er erhielt jetzt aus sehr konzentrierter Lösung in W. oder in abs. A. ein Hydrazon mit Schmelzpunkt 151°.

Fischer und Tafel[3]) erhielten das Hydrazon aus 50%iger wässeriger Rhamnoselösung und Hydrazin (= Menge Rhamnose). Das nach einigen Stunden erhaltene Hydrazon wurde in warmem A. gelöst und von Ä. wieder niedergeschlagen als zarte, farblose Blättchen mit Schmelzpunkt 159°.

H. Jacobi[4]) erhielt das Hydrazon nach Fischer und Tafel (a. a. O.), meldet keinen Schmelzpunkt.

Tanret (a. a. O.) fand einen Schmelzpunkt 160°.

Eigenschaften:

In W. und in A. leicht löslich, in Ä. unlöslich. α_D^{20} in W. = + 54,2° (c = 1) (Jacobi), nach 20 Minuten.

Darstellung:

1/2 g Rhamnose in 1/2 ccm W. gelöst und mit 1/2 g Phenylhydrazin gemischt, scheidet nach ungefähr 1/2 Stunde ein Hydrazon aus. Das nach einigen Stunden erhaltene Hydrazon wurde in wenig abs. A. gelöst und mittels Ä. niedergeschlagen. Nach 24 Stunden wurde das gesammelte Hydrazon mit Ä. gewaschen und getrocknet. Farbloses Hydrazon, 1. Schmelzpunkt 158°, 2. Schmelzpunkt 159°—160°, wie schon Fischer und Tafel angaben (a. a. O.).

Der Schmelzpunkt ist also 159°—160°.

Wenn das Reaktionsgemisch fest geworden ist, soll nicht länger gewartet werden, weil alsdann Gelbrotfärbung eintritt.

4. Fukose-Phenylhydrazon

Lit.: Günther und Tollens[5]) erhielten nach Einwirkung von 2 g sirupöser Fukose in 2 g W. auf 1 g Phenylhydrazin nach 1/2 Stunde eine fast feste Hydrazonmasse.

---

[1]) B. Rayman, Sur l'isodulcite. Bull. Sér., II, **47**, 668—677 (1887).

[2]) B. Rayman, Note sur l'isodulcite. Bull. **47**, 760—761 (1887(.

[3]) E. Fischer und J. Tafel, Synthet. Versuche in der Zuckergruppe. Ber. **20**, 2566—2575 (1887).

[4]) H. Jacobi, Birotation und Hydrazonbildung bei einigen Zuckerarten. Lieb Ann. **272**, 170—182 (1892).

[5]) A. Günther und B. Tollens, Über die Fukose, einen der Rhamnose isomeren Zucker aus Seetang. Ber. **23**, 2585 (1890).

Nach Absaugen, Mischung mit Ä. und Umkristallisation aus 95 % A. schmolz das Hydrazon bei 170°—173°.

Widtsoe und Tollens gaben 168°—170° an[1]).

Müther und Tollens[2]) 170°—173°.

Darstellung:

Nach G.s und T.s Arbeitsweise wurde ein farbloses Hydrazon vom Schmelzpunkt 170° erhalten.

Das Hydrazon zeigt viel Verwandschaft mit Mannose-Phenylhydrazon, ist aber weniger schwer löslich in W. und scheidet sich aus 10 ccm W. nicht aus.

5. d-Glukose-Phenylhydrazon

Lit.: E. Fischer[3]) erhielt eins der Isomere, das α-Hydrazon, durch Einwirkung von 2 Tln. d-Glukose in 1 Teil W. auf 2 Tln. reines Phenylhydrazin. Nach 1—2 Tagen wurde die kristallinisch-feste Masse mit Ä. gerieben, filtriert, in warmem A. gelöst und mittels Ä. niedergeschlagen. Nach einer Wiederholung war der Schmelzpunkt 144°—145°.

Eigenschaften:

Leicht in W. und in warmem A. löslich, fast unlöslich in Ä., Chloroform und Benzol (Fischer).

Skraup[4]) erhielt ein isomeres Hydrazon, von welchem Behrend und Lohr[5]) einen Schmelzpunkt 140°—141° und $\alpha_D = -70°$, herauftreibend zu $-50°$, gefunden hatten.

Nach Hoffmann[6]) sind beide Hydrazone linksdrehend und sollte noch ein drittes rechtsdrehendes Hydrazon bestehen.

Behrend und Lohr (a. a. O) erhielten die Phenylhydrazinverbindung von β-Glukosephenylhydrazon, wenn d-Glukose mit Übermaß Phenylhydrazin in alkoholischer Lösung behandelt wurde. Durch Umkristallisierung aus A. unter bestimmten Bedingungen konnte eine Trennung der beiden Hydrazone herbeigeführt werden.

Jacobi (a. a. O.) erhielt das β-Hydrazon mit nicht ganz konstantem Schmelzpunkt 113°—115°, indem er gleiche Teile d-Glukose und Phenylhydrazin in ¾ Teil W. einwirken ließ. Nach 3 Tagen wurde die Masse mit Ä. gerieben, auf Saugefilterchen gesammelt und aus alkoholischer Lösung mittels Ä. in einem Kältegemische niedergeschlagen. Nach einmaliger Wiederholung wurde im Vacuum getrocknet.

---

[1]) J. A. Widtsoe und B. Tollens, Ber. **33**, 132—143 (1900) und Diss. Widtsoe. Göttingen 1899. Über Arabinose, Xylose und Fukose aus Traganth.

[2]) A. Müther und B. Tollens, Diss. Göttingen 1903.

[3]) E. Fischer, Verb. des Phenylh. m. d. Zuckerarten II. Ber. **20**, 821—834 (1887).

[4]) Zd. H. Skraup, Ü. d. Konstitution des Traubenzuckers. Mon. Chem. **10**, 401—410 (1889).

[5]) R. Behrend und F. Lohr, Über Glukose, sowie deren Phenylh. u. Oxime. Lieb. Ann. **353**, 106—122 (1907); **362**, 78—114 (1908).

[6]) A. Hoffmann, Über die Hydrazone der Zucker und deren Azetate. Lieb. Ann. **366**, 277—323 (1909) und Diss. Hannover 1909.

Eigenschaften:

Schmelzpunkt 113°—115°. Mutarotation. $\alpha_D^{20} = -46,9°$ nach 12—15 Stunden (c = 10 in W.).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Weil die Glukosehydrazone geringen Identifikationswertes sind, wurde nur das β-Hydrazon mit Schmelzpunkt 113°—115° untersucht, weil dieses am bequemsten zu erhalten ist. Aus ½ g d-Glukose, nach Jacobi (a. a. O.) erhalten, war der Schmelzpunkt des Hydrazons 105°—106°. Nach nochmaligem Niederschlagen aus A. mittels Ä. war der 1. Schmelzpunkt 110°—111°, der 2. 112°. Der Schmelzpunkt ist nicht scharf, wie Jacobi (a. a. O.) schon angab; obschon das β-Hydrazon sich aus konzentrierter Lösung leicht bildet, ist es für Identifikation weniger geeignet.

6. d-Mannose-Phenylhydrazon

Lit.: E. Fischer[1]) erhielt dieses Hydrazon mittels salzsauren Phenylhydrazins und Natriumazetats als eine in W. schwer lösliche Verbindung. Nach Umkristallisierung aus warmem W., nachher aus warmem 60%-A., Trocknung bei 100°, war der Schmelzpunkt 188°.

Nachher erhielten Fischer und Hirschberger[2]) bei einem reineren Präparate einen nicht konstanten Schmelzpunkt 195°—200°.

Tollens und Gans[3]) erhielten in abs. A. schwer lösliches, fast farbloses Hydrazon mit Schmelzpunkt „gegen 188°".

Reiss[4]) erhielt mittels essigsauren Phenylhydrazins in der wässerigen Mannoselösung ein farbloses Hydrazon mit Schmelzpunkt 185°—186°.

Hoffmann (a. a. O.) fand 199°—201°.

Eigenschaften:

In 80—100 Tln. siedenden W. löslich, aus welchem bei Abkühlung der größte Teil des Hydrazons sich wieder ausscheidet. In abs. A. und in Azeton viel schwerer löslich. In Ä. und in in Benzol wenig, in heißem 60%-A. leicht. α_D in Pyridin (c = 6) = + 26,28° und 27,03°. Im Mittel + 26,61°. Keine Birotation (Hoffmann).

Darstellung und Schmelzpunkt:

200 mg d-Mannose in 10 ccm W. gelöst und mit einer Lösung von 200 mg Phenylhydrazin in 400 mg 25%iger Essigsäure

[1]) E. Fischer, Verb. d. Phenylhydraz. m. d. Zuckerarten II. Ber. **20**, 821 (1887).

[2]) E. Fischer und J. Hirschberger, Über Mannose I. Ber. **21**, 1805 (1888).

[3]) B. Tollens und R. Gans, Über Zuckersäurebildung usw. Ber. **21**, 2150 (1888).

[4]) A. Reiss, Über die in den Samen als Reservestoff abgelagerte Zellulose usw. Ber. **22**, 609—613 (1889).

gaben bald ein Hydrazon, das aus W., nachher aus 60 % A. umkristallisiert, bei 1. Bestimmung einen Schmelzpunkt 192°, bei 2. 195°—197° zeigte.

Nach Abwaschung mit A. und mit Ä. resp.: 197° und 199° (plötzliches Schmelzen und Aufbrausen; einige Grade vorher Braunfärbung).

Der Schmelzpunkt ist also 199°, wie Hoffmann (a. a. O.) schon fand.

7. d-Galaktose-Phenylhydrazon

Lit.: E. Fischer (a. a. O.) erhielt dieses Hydrazon bei der Einwirkung von 5 g d-Galaktose in 3 g W. auf 5 g reines Hydrazin. Nach 24 Stunden wurde die feste Masse mit Ä. behandelt und das Hydrazon aus heißem A. umkristallisiert. Es wurden kleine, farblose Nädelchen erhalten, welche nach Trocknung im Vacuum, bei 158° (unkorrigiert) schmolzen.

Hoffmann (a. a. O.) erhielt einen Sinterpunkt 158° und einen Schmelzpunkt 160°—161°. Aus alkoholischer und aus essigsaurer-alkoholischer Lösung wurden Hydrazone mit demselben Schmelzpunkte erhalten.

Eigenschaften:

In warmem W. sehr leicht, in kaltem 1 : 50, in Ä. unlöslich (Fischer), in Pyridin leicht löslich (Hoffmann).

α_D^{20} in W. (c = 2 und 4 dM. Rohr) = — 21,6°

Keine Birotation (Fischer). Anfangs α_D in Pyridin = + 20,54°. End α_D = + 9,34° (1,0037 g—25 ccm).

Anfangs α_D = + 20,7 (1,002 g—25 ccm).

End α_D = + 9,23°. In W. α_D = — 21,4° (Hoffmann).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Das Hydrazon schied sich schon in ½ Stunde aus (½ g d-Galaktose, ½ g W., ½ g Hydrazin). Nach einigen Stunden wurde mit Ä. behandelt, auf Saugfilter gesammelt, mit Ä. gewaschen und aus wenig abs. A. das Hydrazon durch Ä. gefällt. Nach Abwaschung mit wenig abs. A. und Ä. war der 1. Schmelzpunkt 150°—160°, der 2. 155°—156°. Nach Umkristallisierung aus wenig abs. A. schmolz das vollkommen farblose, aus mikroskopisch kleinen Nädelchen bestehende Hydrazon bei 157°. Nach Umkristallisierung aus W. 158°, wie Fischer (a. a. O.) bereits angab.

Der Schmelzpunkt ist also 158°.

8. d-Fruktose-Phenylhydrazon

Lit.: Tanret (a. a. O.) erhielt auf die bei Arabinose angegebene Weise das Hydrazon, gibt jedoch keinen Schmelzpunkt an.

Landrieu[1]) erhielt aus 1 Mol. d-Fruktose und 1 Mol. Phenylhydrazin in 20 Tln. abs. A. nach Einwirkung im Wasserbade während einigen Stunden mittels Ä. ein Hydrazon. Nach einigen Wiederholungen mittels A. und Ä. wurde ein farbloses, hygroskopisches Pulver erhalten, das sich an der Luft bald änderte. Schmelzpunkt wird nicht gegeben.

Hoffmann (a. a. O.) erhielt aus alkoholischer Lösung eine Phenylhydrazinverbindung des Fruktosephenylhydrazons als hellgelbe, also noch unreine, lange Nadeln. Besitzt einen Schmelzpunkt ohne Identifikationswert.

Eigenschaften:

Sie werden bei Landrieu (a. a. O.) und bei Hoffmann (a. a. O.) angegeben. Besitzen für unseren Zweck keinen Wert.

Darstellung:

In der Weise, bei den anderen Monosacchariden beschrieben, konnte nach einigen Tagen auch bei niedriger Temperatur kein festes Hydrazon erhalten werden.

9. d-Glukuron-Phenylhydrazinverbindung

Lit.: Thierfelder[2]) erhielt wahrscheinlich ein Gemisch von Osazon und Hydrazon sowie P. Mayer[3]), letzterer verschiedene Gemische, je nachdem er 1 oder mehrere Moleküle Hydrazin an der Reaktion sich beteiligen ließ.

Giemsa[4]) erhielt die Verbindung:

Das Hydrazin, in wenig abs. A. gelöst, wird mit der berechneten Menge gelösten Laktons erhitzt. Die Laktonlösung muß möglichst wenig Wasser enthalten. Daher wird das Lakton als feines Pulver in wenig warmem W. gelöst, unter Umschütteln siedender abs. A. hinzugegeben und weiter erhitzt.

Eigenschaften:

Aus heißem abs. A. umkristallisiert, ist der Schmelzpunkt der schwach gefärbten, in Nadeln kristallisierenden Verbindung 160°. Unlöslich in W. und Ä., fast unlöslich in kaltem A. und Ä., leichter löslich in einem Gemische aus gleichen Teilen A. und Ä. (Giemsa).

Neuberg und Neimann[5]) erachten die Phenylhydrazinverbindungen, weil sie oft aus unreinen Flüssigkeiten entstehen müssen, für Glukuronsäurenachweis nicht geeignet.

---

[1]) Ph. Landrieu, Thermoch. d. Hydrazones et des Osazones des diacétones et des sucres réducteurs. C. R. **142**, 580—582 (1906).

[2]) H. Thierfelder, Untersuchungen über d. Glykuronsäure. Z. physiol. Ch. XI, 388—409 (1887).

[3]) P. Mayer, Ü. d. Phenylhydrazinverb. d. Glukurons. Z. physiol. Ch. **29**, 59—69 (1900). Hier Literatur.

[4]) G. Giemsa, Ü. einige Verb. d. Glukuronsäurelaktons. Ber. **33**, 2996 bis 2998 (1900).

[5]) C. Neuberg und W. Neimann, Neue Reaktionen und Deriv. der Glukuronsäure. Z. physiol. Chem. **44**, 97—113 (1905).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Es wurde nicht versucht, zu ermitteln, in welcher Weise eine Hydrazinverbindung sich zu bilden vermag; ebensowenig, welche Verbindung oder Verbindungen (Hydrazon, Hydrazid, Hydrazonhydrazid) dabei entstehen, weil es sich als genügend herausgestellt hat, daß diese Verbindungen für den Glukuronsäurenachweis ungeeignet sind.

Es ist aber wünschenswert, zu erforschen, ob in der bei den Monosacchariden angegebenen Weise eine Hydrazinverbindung sich abscheidet und wenn ja, ob diese Verbindung beim Monosaccharidnachweis, besonders für Mannose, zu Täuschungen Anlaß geben kann.

100 mg Lakton, in 1 ccm W. gelöst, wurden mit 100 mg Phenylhydrazin gemischt. Bald schied sich eine rötlichgelbe Verbindung aus, welche nach 2 Stunden auf einem Saugfilterchen mit W., dann mit Ä. gewaschen wurde. Es blieben 200 mg einer rosafarbenen Verbindung als sehr feine Nädelchen zurück.

Die Verbindung hat also die Eigenschaft der Schwerlöslichkeit in W. mit der Mannoseverbindung gemeinsam, es sei denn, daß die Schwerlöslichkeit geringer ist. Sie unterscheidet sich von dem Mannosehydrazon durch die leichte Löslichkeit in Azeton.

Aus heißem W. oder heißem 60%-A. kristallisiert wenig oder nichts aus, ebenso wenig aus abs. A. nach Hinzugabe von Ä. Die Verbindung zersetzt sich leicht infolge Osazonbildung. Sie wurde nicht farblos erhalten und wurde also keine Schmelzpunktbestimmung gemacht.

Identifizierungswert der Phenylhydrazone

Wenn wir, wie sich herausgestellt hat, als beste Bildungsweise: ½ g Monose, ½ g Wasser, ½ g Hydrazin annehmen, so ist die Auskristallisierungsschnelligkeit resp.: d-Mannose, Fukose, l-Arabinose, d-Galaktose, Rhamnose, indem Xylose und d-Fruktose sich nicht abscheiden.

Überdies ist der Unterschied zwischen d-Mannose und den übrigen so groß, daß die Mannose sich in der verdünnten Lösung (½ g—10 ccm Wasser) abscheidet; die Reaktion also ist auf diese Weise für Mannose charakteristisch.

Die Phenylhydrazinverbindung ist für den Glukuronsäurenachweis ungeeignet. Bei dem d-Mannosenachweis ist mit der Glukuronsäureverbindung Rechnung zu tragen;

letztere unterscheidet sich durch größere Löslichkeit in den meisten Lösungsmitteln, besonders in Azeton. Der störende Einfluß ist also leicht zu beseitigen.

b) p-Bromphenylhydrazone[1])

I. l-Arabinose-p-Br-phenylhydrazon

Lit.: E. Fischer und Piloty[2]) erachten das p-Bromphenylhydrazin für geeigneter wie das Phenylhydrazin.

Naumann[3]) läßt 2 g Arabinose in 5 g W. auf 2 g p-Bromphenylhydrazin in 10 g abs. A. einwirken. Im Vacuum konzentriert, bilden sich lichtgelbe Kristalle. Nach 2 maligem Umkristallisieren aus sehr viel heißem, verdünntem A. entstehen lichtgelbe, $^1/_2$ mm lange Nadeln, mit Schmelzpunkt 176° (unkorr.).

E. Fischer[4]) läßt 1 Teil reines p-Br-Phenylhydrazin in 12 Tln. warmem W. und 3,5 Tln. 50%iger Essigsäure nach Abkühlung auf $^1/_2$ Teil Arabinose in 1%iger Lösung in W. einwirken. Nach einer Stunde werden die Kristalle auf einem Saugetrichterchen mit W., A. und Ä. gewaschen und im Vacuum getrocknet. Aus heißem W. oder aus heißem 50%-A. umkristallisiert, ist der Schmelzpunkt nicht vollkommen konstant 150°—155°; aus abs. A. oder aus Azeton umkristallisiert, ist der Sinterpunkt 150°, der Schmelzpunkt etwa 162° (korr. 165°) unter Gasentwicklung.

Frankland Armstrong[5]) gibt 150° an.

Fischer (a. a. O.) meldet, daß Azetyl-p-Bromphenylhydrazin sich abscheiden kann, jedoch vom Hydrazon mittels heißen A. getrennt werden kann, wobei das Hydrazon ungelöst zurückbleibt. Fischer (a. a. O.) konnte in obenstehender Weise noch 0,2 g Arabinose neben 4 g Xylose nachweisen, jedoch mußte die Kristallisierungszeit bis 12 Stunden verlängert werden. Fischer (a. a. O.) erachtet diese Reaktion als die charakteristischste für Arabinose; wie wir weiter sehen werden, ist die Reaktion aber noch charakteristischer für Mannose, Fukose und d-Glukuronsäure.

Eigenschaften:

Fast unlöslich in kaltem W.; schwer in warmem und verdünntem, heißem A., unlöslich in kaltem A. und Ä. (Naumann).

In 40 Tln. warmem W. löslich; in heißem abs. A. und in Azeton schwerer. Sehr leicht in heißem 50% A. $\alpha_D = -19,9$ (c in Pyridin 1,555). Nach 24 Stunden 0 (Fischer).

Darstellung und Schmelzpunkt:

1. Hydrazonbildung nach E. Fischer: 500 mg Arabinose in 6 ccm W. wurden mit einer filtrierten Lösung aus 1 g Hydrazin

[1]) Die Firma Kahlbaum bringt Röhrchen von 1 g in den Handel.

[2]) E. Fischer und O. Piloty, Über eine Pentonsäure usw. Ber. **24**, 4214 bis 4225 (1891).

[3]) W. Naumann, Diss. Würzburg 1892.

[4]) E. Fischer, Ü. einige Hydrazone und Osazone der Zuckergruppe. Ber. **27**, 2480—2492 (1894).

[5]) E. Frankland Armstrong, Die einfachen Zuckerarten 1913, S. 35 und die englische Ausgabe S. 50 (1919).

in 12 ccm W. + 3,5 ccm 50%iger Essigsäure gemischt. Nach einigen Stunden wurde auf Saugfilter mit abs. A. und mit Ä. gewaschen und aus 50%-A. umkristallisiert. Der 1. Schmelzpunkt 160—161°, der 2. 161—162°. Nach nochmaligem Auswaschen mit abs. A. und mit Ä. blieben von 1050 mg 250 mg Nädelchen zurück. 1. Schmelzpunkt: 162°, 2. 163°. Aus der Mutterlauge kristallisierten wieder Kristalle aus, massivere und besenförmige. Eine 3. Kristallisation bestand aus Nädelchen und Täfelchen, 1. Schmelzpunkt: 167°, 2. 167—168°.

Eine 4. Kristallisation aus W. ergab Nädelchen, Schmelzpunkt: 164°.

Von den erhaltenen 434 mg Kristallen waren 301 mg in Pyridin löslich und 53 mg darin unlöslich (diese sind mehr Täfelchen und breite Nädelchen). 1. Schmelzpunkt: 165°, 2. 167—168°.

Obwohl es richtig ist, daß bei größeren Mengen Arabinose deren 1%ige Lösung das Hydrazon abscheidet, so ist das bei 200 mg nicht mehr der Fall; es ist daher besser, die 200 mg in 5 ccm W. zu lösen. Mit dieser Lösung wurde wieder wie oben verfahren. Aus einem Kältegemisch kristallisierten aus 50%-A. sehr schwach gelbliche Kristalle vom Sinterpunkt 160° (nicht 150°) und Schmelzpunkt 163—164°.

800 mg Arabinose in 10 ccm W. wurden mit 1,6 g des Hydrazins in 5,6 ccm 50%iger Essigsäure behandelt. Nach 3/4 St. wurden 1,65 g dünne, gelbliche Nädelchen, zu Garben vereinigt, gesammelt. In Pyridin langsam löslich. Schmelzpunkt: 158—159°. Aus W. umkristallisiert 164—165°. Aus 50%-A. entstehen schwere Prismen und 6-eckige Täfelchen. Lösen sich sehr langsam in Pyridin auf, Schmelzpunkt 166—167°. Nach Auskochung mit abs. A. blieb ein Hydrazon mit Schmelzpunkt 168—169° zurück.

2. Hydrazonbildung nach Naumann: 250 mg Arabinose in 625 mg. W. wurden mit 1/4 g des Hydrazins in 1,25 g abs. A, im Vacuum getrocknet. Bei Abwaschung mit abs. A. und Ä., blieb ein farbloses Hydrazon in kurzen, dickeren, glänzenden Kristallen, vom Schmelzpunkt 172—173° zurück. In siedendem W. war ein Teil des Hydrazons äußerst schwer löslich, so ganz verschieden wie bei dem Fischerschen Hydrazon.

Die Masse wurde mit W. ausgekocht. Was sich nicht löste, sah lichtgelblich aus und schmolz, 1. Bestimmung: 173—174°, 2. Bestimmung: 175°. Was aus dem W. auskristallisierte, bestand

aus farblosen Nädelchen, Schmelzpunkt 164—165°. Es entstehen hier also offenbar 2 Hydrazone nebeneinander, das Fischersche neben einem anderen. Das Gemisch beider schmilzt bei 172—173°. (Naumann 176° unkorr.) — Wieder wurde ½ g Arabinose wie oben behandelt. Nach 1,5 Tag wurde gesammelt usw. Es waren keine dickeren Kristalle, sondern dünne Nädelchen und besenförmige Aggregate. Nach Abwaschung mit abs. A. und dann Trocknung, Schmelzpunkt 148°. Nach Umkristallisierung aus heißem W. weiße, wollige Kristalle, Schmelzpunkt 160—161°. Es war also wahrscheinlich kein zweites Hydrazon entstanden.

Nun wurde ½ g Arabinose, wie oben, zur Einwirkung während einiger Stunden hingestellt, alsdann im Vacuum eingedampft. Es wurde mit abs. A. und mit Ä. gewaschen; die Masse mit W. ausgekocht. Was sich nicht löste, bestand aus massiveren, fast weißen Kristallen, Schmelzpunkt 162°. Der gelöste Teil kristallisierte aus, Schmelzpunkt 161°. Jetzt wurde mit 50% A. ausgekocht; der ungelöste Teil schmolz bei 164° (nach Umkristallisierung aus W., besenförmig gruppierte Kristalle, leicht in Pyridin löslich, Schmelzpunkt 165°). Was in Lösung gegangen war, kristallisierte in 24 Stunden als massivere, prismatische Kristalle aus, 1. Schmelzpunkt 172—173°, 2. 173°. Aufbrausen bei 179—180°. Es ist schwerer in Pyridin löslich. Der in Pyridin lösliche Teil des Naumannschen Hydrazons drehte erst +, dann 0.

Nun wurde 1 g Arabinose in 2,5 ccm W. mit 1 g p-Br-Phenylhydrazin in 10 ccm abs. A. bei gewöhnlicher Temperatur in Reaktion gebracht. Nach einigen Stunden kristallisierten kürzere Kriställchen, in einer Nacht eine Kristallkruste, die Flüssigkeit war gelblich.

Die farblosen Kristalle (A.) abgewaschen mit abs. A. und mit Ä., waren glänzende Prismen, Schmelzpunkt nicht ganz scharf 165—167°. Gewicht 750 mg. In Pyridin nicht oder sehr schwer und sehr langsam löslich. Sie wurden zweimal mit W. ausgekocht. Es kristallisierten sehr wenig, lange dünne Nädelchen, leicht in Pyridin löslich, Schmelzpunkt 162°. Die Hauptmasse, welche sich nicht löste, schmolz bei 165—167°. Diese wurde aus 50%-A. umkristallisiert. In einer Nacht entstanden ungefähr 250 mg glänzende, schwach gelbliche, schlanke, zugespitzte Prismen, keine Nädelchen, in Pyridin äußerst schwer und langsam löslich, Schmelzpunkt nicht ganz scharf 168—169° (einige Grade höher Aufbrausen). Nach einiger Zeit entstand eine 60 mg wiegende 2. Kristallisation

derselben prismatischen Form, jedoch leicht in Pyridin löslich und nicht scharf bei 169° schmelzend. Dann entstand eine 3. Kristallisation, ungefähr 200 mg wiegend; dieselbe prismatische Form, aber langsam und schwer in Pyridin löslich, Schmelzpunkt 163—164°.

Die Mutterlauge von A. wurde im Vacuum getrocknet; nach Abwaschung mit abs. A. und Ä. blieben ungefähr 550 mg einer gelbweißen Substanz, als nicht-schöne, gelbe Prismen vom Schmelzpunkt ungefähr 150° zurück. Nach Umkristallisierung aus 50 %-A. entstanden gelbliche Prismen, in Pyridin sehr langsam löslich, Schmelzpunkt 167°.

Schließlich wurde alles Hydrazon vereint und mit W. ausgekocht. Was sich nicht löste, schmolz bei 163—164° (ging in viel heißem W. in Lösung, kristallisierte in Besen und losen Nädelchen, Schmelzpunkt 161°).

Was sich löste, kristallisierte in 24 Stunden in Besen aus, in Pyridin leicht löslich. Schmelzpunkt 162—163°. Wurden beide wieder aus 50 %-A. umkristallisiert, so entstanden wieder Prismen, vom Schmelzpunkt 167°.

Wir ersehen also, daß bei Umkristallisierung aus W. Nädelchen entstehen, welche leicht in Pyridin löslich sind, Schmelzpunkt 161—163°, wogegen beim Umkristallisieren aus 50 % A. Prismen entstehen, schwer und langsam in Pyridin löslich, und mit dem Schmelzpunkt 167°.

Wenn 1 g Arabinose, wie oben angegeben, kalt der Hydrazinlösung hinzugegeben, und sofort im Vacuum getrocknet wird, entstehen dieselben Verhältnisse wie oben. Das ist ebenso der Fall, wenn Arabinose- und Hydrazinlösungen während einiger Minuten gekocht werden, und dann langsam im Vacuum getrocknet werden.

Wir ersehen also aus diesen Experimenten, daß nur einmal der Schmelzpunkt Naumanns fast erreicht wurde; weiter, daß das Kristallisierungsmittel die Kristallform, Löslichkeit und Schmelzpunkt beeinflussen. Es bleibt die Wahrscheinlichkeit mehrerer Hydrazone bestehen.

Vorzuziehen bleibt die Fischersche Arbeitsweise in essigsaurer Lösung (siehe oben).

Der Schmelzpunkt ist also 168°. Ist das Hydrazon nicht völlig farblos, so kann der Schmelzpunkt einige Grade niedriger liegen.

2. Xylose-p-Bromphenylhydrazon

Lit.: Naumann (a. a. O.) erhielt dieses Hydrazon durch Einwirkung von 2 g Xylose in 5 g W. auf eine Lösung von 2 g Hydrazin in abs. A. bei gewöhnlicher Temperatur. Nach 24 Stunden wurde das abfiltrierte Hydrazon mit nicht zu viel Ä. gewaschen und zweimal aus wenig heißem W. umkristallisiert. Lichtgelbe Nadeln, im Vacuum getrocknet, bei ungefähr 128° (unkorr.) schmelzend.

Eigenschaften:

In heißem W. und in A. leicht löslich. $\alpha_D = -20{,}49^0$ (c = etwa 1) (Naumann).

Darstellung und Schmelzpunkt:

1. Hydrazonbildung nach E. Fischer: Auch nach längerer Einwirkung scheidet sich kein Hydrazon ab.

2. nach Naumann: 250 mg Xylose in 625 mg W. + 250 mg Hydrazin in 1250 mg abs. A., scheiden in 24 Stunden nichts aus. Nach Austrocknung im Vacuum wurde am folgenden Tage aus W. umkristallisiert, wobei hellbraune Kristalle auftraten. Nach schneller Waschung mit abs. A. und Ä. wurden makroskopische, rosafarbene Nädelchen erhalten, leicht in Pyridin löslich, Schmelzpunkt: 1. Bestimmung 127°, 2. 128—129°, also der Naumannsche.

3. Rhamnose-p-Bromphenylhydrazon

Lit.: Naumann (a. a. O.) erhielt es durch Einwirkung von 2 g Rhamnose in 10 g W. auf die Lösung von 2 g des Hydrazins in 10 g abs. A. Nach 24 Stunden wurde das filtrierte Hydrazon mit kaltem W. und Ä. gewaschen und aus heißem W. umkristallisiert. Fast farblose Kristalle, Schmelzpunkt 168° (unkorr.).

Morrell und Crofts[1]) fanden 167°.

Eigenschaften:

Leicht in A. und in Pyridin löslich (Naumann).

Darstellung und Schmelzpunkt:

1. nach E. Fischer: Auch bei längerer Einwirkung scheidet sich kein Hydrazon aus.

2. nach Naumann: Es wurden farblose, silberglänzende Kristalle mit Schmelzpunkt 168—169°, wie Naumann fand, erhalten.

4. Fukose-p-Bromphenylhydrazon

Lit.: Widtsoe und Tollens (a. a. O.) erhielten es durch Einwirkung von 20 g des sirupösen Zuckers (durch Hydrolyse erhalten) auf eine Lösung von 16 g des Hydra-

---

[1]) R. S. Morrell und J. M. Crofts, Proc. Soc. 19, 258.

zins in 60 ccm W. und 40 ccm Essigsäure. Es wurde mit Ä. gemischt und abgesogen. Schmelzpunkt 181—183°. Dieses Hydrazon der Fukose aus Fucus hatte einen Schmelzpunkt 179—180°.

Eigenschaften:

Perlmutterglänzende, schuppenförmige Kristalle, leicht in 50 % A.; wenig in 95 % A. löslich. (W. und T.)

Darstellung und Schmelzpunkt:

1. nach E. Fischer. 100 mg Fukose in 5 ccm W. wurden mit einer filtrierten Lösung aus 200 mg des Hydrazins in 5 ccm W. + 700 mg 50 %iger Essigsäure zur klaren Flüssigkeit erwärmt. Bald schied sich ein Hydrazon aus, das nach einigen Stunden auf Saugefilter mit W., abs. A. und Ä. gewaschen wurde. Nach Umkristallisierung aus heißem W. entstanden äußerst schwach gelbliche, feine, zentrisch gruppierte Nädelchen, in Pyridin sehr leicht löslich, Schmelzpunkt: 1. Bestimmung 178°, 2. 178°. Aus 30 %-A. kristallisiert, blieb der Schmelzpunkt 178°.

Also Schmelzpunkt 178°.

5. d-Glukose-p-Bromphenylhydrazon

Lit.: Naumann (a. a. O.) erhielt es durch Einwirkung von 5 g d-Glukose, wie bei l-Arabinose beschrieben, durch 3 tägige Einwirkung und Konzentrierung im Vacuum. Das zweimal aus W. umkristallisierte Hydrazon bestand aus kurzen Nädelchen; über Schwefelsäure im Vacuum getrocknet, Schmelzpunkt 148° (149°) unkorr.

Frankland Armstrong (a. a. O.) gibt 147° an; Rosenthaler[1]) 164—166° und 147°.

Hoffmann (a. a. O.) erhielt dieses Hydrazon durch Einwirkung einer kalten Lösung von 1 g d-Glukose in 0,8 g W. auf eine Lösung von 1 g des Hydrazins in 11 ccm A. Nach 5 Tagen wurde das Hydrazon als lange, dünne Prismen gesammelt; Sinterpunkt 146°, Schmelzpunkt 164—166°; Aufbrausen 170°. 2,5 g Hydrazon, aus 12,5 ccm heißem A. umkristallisiert, erzeugten lichtgelbe Prismen und Blättchen, Sinterpunkt 144°, Schmelzpunkt 148—150° unter Gasentwicklung. 2,5 g Hydrazon wurden aus 12,5 ccm heißem A. unter Hinzufügung von 2 ccm Eisessig kristallisiert; es entstanden schneeweiße Nädelchen und Prismen, Sinterpunkt 146°, Schmelzpunkt 151—154°. Zersetzungspunkt 170°. Die übrigen Eigenschaften waren von beiden dieselben.

1. α_D in Pyridin — 12,49° End α_D + 18,05°.
2. α_D in Pyridin — 18,22° End α_D + 17,87°.

Eigenschaften:

Unlöslich in kaltem W. und in Ä., in nicht zu viel A. löslich, $\alpha_D^{20} = -44{,}27^0$ (c = 2 in W.) Naumann. Schwer in Ä., kaltem W., kaltem A. löslich, leicht in Pyridin. Mutarotation.

[1]) L. Rosenthaler, Org. Verbindungen 1914, S. 193.

Anfangs α_D in Pyridin = — 43,67°. End α_D = + 18,94° (durch Eisessig beschleunigt, 2 d. M. Rohr, Lösungsmittel zu 25 ccm) (Hoffmann).

Darstellung und Schmelzpunkt:

1. nach E. Fischer: Auch bei längerem Stehen scheidet sich nichts aus.

2. nach Naumann: 500 mg d-Glukose in 2,5 g W. + 500 mg des Hydrazins in 2,5 g abs. A. schieden in 1,5 Tagen nichts aus. Nach Austrocknung im Vacuum wurde schnell mit abs. A. und mit Ä. gewaschen. Ein gelbweißes Hydrazon, 1. Schmelzpunkt unscharf 144—147°, 2. Schmelzpunkt 144—148°. Nach Umkristallisierung aus W., Abwaschung mit abs. A. und Ä., ein grauweißes Hydrazon, Schmelzpunkt 143—145°. Umkristallisierung aus abs. A. + Eisessig gelang nicht.

Der Schmelzpunkt stimmt also ungefähr mit dem von Naumann gegeben. Der von Hoffmann (a. a. O.) gegebene Schmelzpunkt 164—166° wurde nicht erreicht.

Ob wir es hier mit einem oder mehreren Hydrazonen zu tun haben, ist zweifelhaft.

6. d-Mannose-p-Bromphenylhydrazon

Lit.: Naumann (a. a. O.) erhielt in der bei Arabinose beschriebenen Weise ein Hydrazon, das nach Abwaschung mit abs. A. und Ä., Umkristallisierung aus heißem, verdünntem A., aus schwach bräunlichen Blättchen bestand, Schmelzpunkt 207—208° (unkorr.).

Nachher fand Kölle[1]) 208—210°.

Eigenschaften:

Sehr schwer in heißem W. löslich, unlöslich in kaltem, abs. A. und in Ä. (Naumann). Unlöslich in Chloroform, wenig in Benzol und Äthylazetat, leicht in heißem Eisessig (Kölle).

Darstellung und Schmelzpunkt:

1. nach E. Fischer: In der Weise, wie bei Arabinose angegeben, behandelt, kristallisiert bald ein Hydrazon, viel schwerer in W. und in verdünntem A., wie die entsprechende Arabinoseverbindung löslich.

E. Fischer (a. a. O.) gibt an, daß das p-Bromphenylhydrazon für Arabinose charakteristisch ist; daß mit Glukose usw. kein

---

[1]) M. Kölle, Weiteres über das Invertin., Z. Physiol. Chem. **29**, 429 bis 436 (1900).

Hydrazon unter den bei Arabinose gegebenen Bedingungen entsteht. Ich fand das Hydrazon jedoch nicht nur für Arabinose, sondern auch für d-Mannose und Fukose, und wie wir noch sehen werden, mehr oder weniger für d-Glukuronsäure charakteristisch. F. hat die 3 Substanzen wahrscheinlich nicht untersucht.

Das erhaltene Hydrazon wurde auf Saugfilter mit abs. A. und Ä. gewaschen. Weil große Mengen 50% A. für die Lösung nötig sind, wurde mit unzureichenden Mengen ausgekocht. Was sich nicht löste, schmolz 1. Bestimmung bei 203°, 2. 205°; aus dem A. kristallisierte ein Hydrazon, das nach Abwaschung mit abs. A. und Ä. bei 206° schmolz. Beide waren gelblich. Jetzt wurde das Hydrazon (Schmelzpunkt 205°) mit unzureichenden Mengen W. ausgekocht. Was sich nicht löste, schmolz 1. Bestimmung bei 203°, 2. 202—203°. Aus der Flüssigkeit kristallisierten gelbliche Rhomben, Schmelzpunkt 206°.

2. nach Naumann: Behandelt, wie früher angegeben, wurde nach 24 Stunden ein entstandenes Hydrazon mit abs. A. und Ä. gewaschen. Es resultierte ein schwach gelbliches Hydrazon mit Schmelzpunkt 206°. Aus W. und aus 50% A. umkristallisiert, waren es farblose Rhomben oder längliche Rhomben. 1. Schmelzpunkt 207°, 2. 208°.

Das Fischersche und das Naumannsche Hydrazon schmelzen also fast bei derselben Temperatur, so daß hier wohl nicht von Isomerie die Rede sein wird. Daß das Fischersche um 2° niedriger schmilzt, wird wohl seine Ursache in einer Spur Verunreinigung des schwach gelblichen Hydrazons haben.

Also Schmelzpunkt aus saurer Lösung 206° (oft 203°), aus neutraler Lösung 208°.

Löst sich schwer und langsam in Pyridin.

7. d-Galactose-p-Bromphenylhydrazon

Lit.: Naumann (a. a. O.) erhielt nach einigen Stunden ein schwachgelbes, aus kleinen Nädelchen bestehendes Hydrazon. Nach Umkristallisierung aus heißem W., dann aus heißem verdünntem A., schmolz das sehr wenig gefärbte Hydrazon bei 168° (unkorr.) nach Trocknung im Toluolbade bei 105°.

Hoffmann (a. a. O.) erhielt dieses Hydrazon durch Vereinigung beider Komponente in A., mit oder ohne Essigsäure, Schmelzpunkt 165—170°.

Aus 1 g Galaktose in 0,6 ccm W. und 1 g des Hydrazins in 11 ccm A. eine sirupöse Masse, welche nach 3 Stunden Schüttelns wieder in Lösung ging. Nach 2 Tagen wurde ein Hydrazon gesammelt und mit A. und Ä. gewaschen. Sinterpunkt 164°. Schmelzpunkt 166—167°. Aus alkoholisch-essigsaurer Lösung dasselbe Hydrazon.

Eigenschaften:

In kaltem W. und in Ä. unlöslich (Naumann).
Schwer in W. löslich, leicht in Pyridin (Hoffmann).

Darstellung:

1. nach E. Fischer: Es bildeten sich Kristalle, welche nach Absaugen, Abwaschung mit abs. A. und mit Ä. fast ganz verschwanden. Eine geringe Menge farbloser Substanz blieb zurück. 1. Schmelzpunkt 163°, 2. 165° (einige Grade vorher Sinterung).

2. nach Naumann: Nach 24 Stunden wurde ein Hydrazon gesammelt und mit abs. A. und Ä. gewaschen. Es wurde aus wenig abs. A., und aus wenig W. umkristallisiert, wobei auch in einem Kältegemische ziemlich viel in Lösung blieb. Nach schnellem Abwaschen mit A. und Ä. war der 1. Schmelzpunkt 167°, der 2. 169°; es waren farblose, lange, dünne Nädelchen, in Pyridin leicht löslich.

Weil die Schmelzpunkte des Fischerschen und des Naumannschen nur wenig differieren, ist hier Isomerie wohl ausgeschlossen.

Also Schmelzpunkt aus essigsaurer Lösung 165°, aus neutraler, alkoh. Lösung 168°.

8. d-Fruktose-p-Bromphenylhydrazon

Lit.: Naumann (a. a. O.) erhielt nicht das Hydrazon, sondern das Osazon. Ebenso wenig konnte Hoffmann (a. a. O.) es erhalten, weder aus W., noch aus A oder Essigsäure.

Ebenso wenig gelang es mir nach E. Fischer oder nach Naumann ein Hydrazon zur Abscheidung zu bringen.

9. d-Glukuron-p-Bromphenylhydrazinverbindung

Lit.: Giemsa (a. a. O.) erhielt auf die bei der Phenylhydrazinverbindung beschriebene Weise (S. 151) die Verbindung als Sterne aus kleinen, langgedehnten Kristallen bestehend, vom Schmelzpunkt 142°.

C. Neuberg (a. a. O.) fand dasselbe.

Eigenschaften:

In kaltem W. unlöslich, wenig in Ä., leichter in A. löslich.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Weil das p-Bromphenylhydrazon aus wässerig-essigsaurer Lösung nach Fischer für d-Mannose, Fukose und Arabinose charakteristisch ist, wurde erforscht, wie d-Glukuron sich in dieser Hinsicht verhält. Es stellte sich heraus, daß sich das d-Glukuron ebenso niederschlägt.

100 mg d-Glukuron in 1 ccm W. gelöst und mit einer Lösung aus 200 mg salzsaurem p-Bromphenylhydrazin + 270 mg Natriumazetat + 2 ccm W. + Essigsäure zur klaren Flüssigkeit gemischt, schieden sehr bald eine rosa gefärbte Hydrazinverbindung in federförmig gruppierten Nädelchen aus. Nach einigen Stunden wurde auf Saugfilter mit W., mit abs. A. und wieder mit Ä. gewaschen. Es blieben 10 mg einer farblosen Hydrazinverbindung zurück, mit Schmelzpunkt 141—142°, wie Giemsa (a. a. O.) schon angab.

Die Verbindung kann aus heißem W. umkristallisiert werden. Beim Umkristallisieren aus 50%-A. verringert sich die Ausbeute sehr.

Obschon nicht erforscht wurde, welche Verbindung hier vorlag, wurde klar, daß sie, der geringen Ausbeute wegen, für die Identifizierung der d-Glukuronsäure nicht geeignet ist.

Was hier aber von Wichtigkeit ist, ist die Tatsache, daß es, ebenso wie Mannose, Fukose und Arabinose aus wässerig-essigsaurer Lösung niederschlägt. Es unterscheidet sich von diesen Hydrazonen durch seine größere Löslichkeit in 50%-A.

Identifizierungswert der p-Bromphenylhydrazone. Ketosen reagieren nicht mit p-Bromphenylhydrazin. Obschon nach der Naumannschen Methode alle Aldosen p-Bromphenylhydrazone abscheiden, ist es zur Unterscheidung besser, nach der Fischerschen in essigsaurer Lösung zu arbeiten, weil in diesem Falle nur l-Arabinose, Fukose, d-Mannose und d-Glukuronsäure niederschlagen, wobei Xylose, Rhamnose, Glukose und Fruktose in Lösung bleiben. d-Galaktose kann sich ebenso in geringen Mengen ausscheiden, wenn die Verhältnisse dafür günstig sind.

Für d-Glukuronsäurenachweis ist die Verbindung ungeeignet. Indessen kann sie Arabinose, Fukose, d-Mannose stören; bei 1- bis 2maliger Umkristallisierung aus 50%-A. bleibt sie in Lösung und stört also nicht mehr.

c. α-Methylphenylhydrazone

I. l-Arabinose-α-Methylphenylhydrazon

Lit.: Alberda van Ekenstein und Lobry de Bruyn[1]) erhielten dieses Hydrazon durch Einwirkung einer heißen, konzentrierten Arabinoselösung auf die äqui-

[1]) W. Alb. v. Ekenstein und C. A. Lobry de Bruyn. Sur quelques nouvelles Hydrazones des sucres etc. Rec. 15, 97—99 (1896) und 225—229 (1896).

valente Menge des Hydrazins, in der molekularen Menge Eisessig gelöst. Die erhaltene Kristallmasse wurde mit wenig Methylalkohol gemischt, dann mit etwas W., auf Saugfilter gesammelt und aus 30 à 50 %-A. umkristallisiert. Schmelzpunkt 161°.

Ruff und Ollendorff[1]) geben an, daß die Hydrazone nach A. v. E. und L. d. B. besser in alkoholischer, als in essigsaurer Lösung gebildet werden, was besonders bei den Naphthylhydrazonen (siehe dort) von Wichtigkeit ist. Daß dies noch vorteilhafter ist, wurde klar, als es Neuberg[2]) gelang, aus neutral-alkoholischer Lösung Hydrazonbildung bei Glukose wahrzunehmen, indem es v. E. und L. d. B. nach ihrer Methode nicht gelang.

Müther und Tollens[3]) behandelten eine Lösung aus 5 g Arabinose in 30 ccm W. mit 4 g α-Methylphenylhydrazin und A. zur klaren Lösung. Nach einer Stunde entstanden schöne, farblose Kristalle, Schmelzpunkt 159—161°. Nach einigen Umkristallisierungen aus W. und aus A. war der Schmelzpunkt 164°.

Eigenschaften:

Sehr schwer löslich in W., fast unlöslich in Ä., leicht löslich in verdünntem und in starkem A., und in Pyridin (Müther).

Darstellung und Schmelzpunkt:

½ g Arabinose in 3 ccm W. gab mit 0,4 g des Hydrazins und A. zur klaren Flüssigkeit in ½ St. eine Kristallisation. Nach 3 St. wurde das farblose Hydrazon auf Saugfilter gesammelt und aus heißem W. umkristallisiert; es entstanden fast rechteckige, seidenglänzende Blättchen, 1. Schmelzpunkt 162°, 2. 164°. Nach Umkristallisierung aus 30 %-A. war der Schmelzpunkt 165°, also um 1° höher als der Müthersche.

Also Schmelzpunkt 165°.

2. Xylose-α-Methylphenylhydrazon

Lit.: C. Neuberg[4]) schrieb über dieses Hydrazon. Müther und Tollens (a. a. O.) erhielten nach ihrer Methode am nächsten Tage ein Hydrazon (Schmelzpunkt 97—107°), aus W. und aus wenig A., Schmelzpunkt 107—108°. Nach einigen Umkristallisierungen aus verdünntem A. unter Benutzung von Tierkohle war der Schmelzpunkt 108—110°.

Ofner[5]) ließ 2 g Xylose in 5 ccm 50 %iger Essigsäure auf 1,7 g des Hydrazins während 2 Stunden einwirken. Nach Mischung mit viel Ä. und Ligroïn wurde die Flüssigkeit vom Sirup abgegossen. Die sirupöse Masse wurde mit einer neuen Menge Ä.

[1]) O. Ruff und G. Ollendorff, Verfahren zur Reindarstellung und Trennung von Zuckern. Ber. **32**, 3234—3237 (1900).

[2]) C. Neuberg, Über die Isolierung von Ketosen. Ber. **35**, 959—966 (1902).

[3]) A. Müther, Untersuchungen über Fucus-Arten. Diss. Göttingen 1903. S. 54.

[4]) C. Neuberg, Z. Rüb., 52, 547 (1902).

[5]) R. Ofner, Über die Abscheidung von Aldosen durch sekund. Hydrazine. Ber. **37**, 4399—4402 (1904).

gemischt und dann mit einem Glasstabe gerieben. Nach Absaugen auf porösem Teller, Erwärmen mit Ä., wurde aus W. mit wenig A. umkristallisiert. Wurde nach Neuberg aus Äthylazetat umkristallisiert, so war der Schmelzpunkt 110—111^{0} (Neuberg selber fand 103^{0}).

Eigenschaften:

Sehr schwer in W., leicht in verdünntem und starkem A. und in Pyridin löslich, fast unlöslich in Ä. In Pyridin $\alpha_D = 0$ (Müther und Tollens).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose angegeben, behandelt, entsteht in 24 St. nichts. Beim zweiten Versuch wurde sofort eingedampft; bald wurde die Masse fest. Bei Reibung mit Ä. wurde die Masse weich; mit Wasser fest. Nach Umkristallisierung aus 30%-A. entstanden farblose, glänzende Blättchen, welche schnell mit abs. A. und Ä. gewaschen, und getrocknet, bei 112^{0} schmolzen.

Also Schmelzpunkt 112^{0}.

3. Rhamnose-α-Methylphenylhydrazon

Lit.: Alberda v. Ekenstein und Lobry de Bruyn (a. a. O.) erhielten in der bei Arabinose beschriebenen Weise ein Hydrazon. Schmelzpunkt 124^{0}.

Eigenschaften:

Farblose Kristalle, wenig in W. und in abs. A., leicht in abs. Methylalkohol löslich. α_D in abs. $CH_3OH = -0{,}3$ ($c = 0{,}5$) und $-0{,}7^{0}$ ($c = 4$) (Alb. v. E. und L. d. B.).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose angegeben, behandelt, entsteht nach 3 Stunden nichts, und wurde jetzt wie bei Xylose gehandelt. Nach 24 Stunden entstanden farblose Täfelchen; aus W. umkristallisiert, seiden- oder silberglänzende, sehr leicht in Pyridin lösliche Täfelchen. Es wurde mit abs. A. und mit Ä., das jedoch Verlust gab, gewaschen. 1. Schmelzpunkt 122^{0}, 2. 124^{0}, also der Alb. v. E. und L. de B.sche.

Also Schmelzpunkt 124^{0}.

4. Fukose-α-Methylphenylhydrazon

Lit.: Müther und Tollens (a. a. O.) erhielten nach ihrer Arbeitsweise farblose Nadeln vom Schmelzpunkt 163—164^{0}, welcher nach einigen Umkristallisierungen aus W. und aus A. auf 177^{0} stieg.

Eigenschaften:

Leichter löslich als das entsprechende Diphenylhydrazon (siehe dort); übrige Eigenschaften dieselben.

Darstellung und Schmelzpunkt:

100 mg Fukose, nach M. und T. behandelt, gaben bald ein Hydrazon, das nach einigen Stunden gesammelt, und mit W., abs. A. und mit Ä. gewaschen wurde. Silberweiße, rechteckige, zusammenhängende Kristalle, Schmelzpunkt 180°. Aus 30%-A. gleichfalls 180°.

Also Schmelzpunkt 180°.

5. d-Glukose-α-Methylphenylhydrazon

Lit.: C. Neuberg [a. a. O. Ber. **35**, 965 (1902)] erhielt dieses Hydrazon durch Eindampfen äquivalenter Mengen d-Glukose in W. und α-Methylphenylhydrazin in A. Der entstandene Sirup wurde mit abs. A. behandelt; die entstandenen und gesammelten Kristalle aus A. umkristallisiert, waren farblos, langgestreckt. Schmelzpunkt 130°.

Ofner[1]) erhielt das Hydrazon aus 2 g Glukose in 5 ccm 50%iger Essigsäure, und 1,8 g des Hydrazins. Nach 2 St. wurden die gesammelten, farblosen Nadeln aus wenig W. umkristallisiert. Impfung oder Reibung mit Glasstab kann nötig sein.

Schmelzpunkt 126—130°.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Bei kleinen Mengen entsteht dieses Hydrazon so schwer, daß es für Identifizierung wertlos ist.

6. d-Mannose-α-Methylphenylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein und Lobry de Bruyn (a. a. O.) erhielten ein farbloses Hydrazon, Schmelzpunkt ungefähr 178°.

Eigenschaften:

Schwer löslich in W. und in abs. A., etwas besser in abs. Methylalkohol (100 ccm bei 16—18° = 0,59 g). α_D in CH_3OH = ungefähr 8,6° (c = 1/2). (Alb. v. E. und L. d. B.)

Hilger und Rothenfußer (Lit. siehe bei β-Naphthylhydrazone) erhielten einen Schmelzpunkt 181°.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose angegeben, behandelt, entstehen bald farblose, fast rechteckige Täfelchen. Nach einigen Stunden wird gesammelt und mit W., abs. A. und Ä. gewaschen. Nach Um-

---

[1]) R. Ofner, Über die Abscheidung von Aldosen durch sekund. Hydrazine. Ber. **37**, 4399—4402 (1904).

kristallisierung aus 30 %-A. und Abwaschen mit A. und Ä., sind es seidenglänzende Kristalle vom Schmelzpunkt 181°, also wie der H. und R.sche.

Also Schmelzpunkt 181°.

7. d-Galaktose-α-Methylphenylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein und Lobry de Bruyn (a. a. O.) erhielten auf die bei Arabinose beschriebene Weise ein farbloses Hydrazon, Schmelzpunkt 180°. Votoček und Vondraček[1]) fanden 187—188°. Müther und Tollens (a. a. O.) fanden nach wiederholtem Umkristallisieren aus verdünntem A. mit Pyridin einen Schmelzpunkt 190°. Gleichfalls Alb. v. Ekenstein und Blanksma[2]) nach Abwaschung mit Methylalkohol und Umkristallisierung aus Äthylalkohol.

Ofner[3]) gibt 180—183° an.

Eigenschaften:

In W. sehr schwer löslich, sowie in abs. A., fast unlöslich in abs. Methylalkohol (Alb. v. E. und L. de B.). In Pyridin keine Drehung, ebenso nicht in abs. Methylalkohol. (Diss. Müther S. 46.)

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose angegeben, behandelt, kristallisiert bald ein Hydrazon usw. Nach Umkristallisierung aus 30 %-A. silberglänzende, etwas breite Nädelchen, ziemlich gut in Pyridin löslich.

Schmelzpunkt 190—191°. Also der Müthersche.

8. d-Fruktose-α-Methylphenylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein und Lobry de Bruyn (a. a. O.) konnten nach ihrer Arbeitsweise kein Hydrazon erhalten.

Ofner (a. a. O.) fand das Hydrazon identisch mit demjenigen der d-Glukose.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei d-Glukose entsteht das Hydrazon zu schwer, um Identifizierungswert zu besitzen.

9. d-Glukuron-α-Methylphenylhydrazinverbindung

100 mg d-Glukuron in 2 ccm W. wurden mit 100 mg des Hydrazins, wie bei Arabinose, behandelt. Es schied sich kein

---

[1]) E. Votoček und R. Vondraček, Über die Zuckercomponente des Solanins und Convallamarins. Ber. **36**, 4372—4373 (1903).

[2]) W. Alberda v. Ekenstein und J. J. Blanksma, De suiker uit kikvorscheieren. Ch. W. **4**, 407—411 (1907).

[3]) R. Ofner, Eine neue Methode zum Nachweis und zur quant. Bestimmung der Raffinose. Z. Böhm, Durch Chem. Zentralblatt I, 995 (1907).

Hydrazon aus, und konnte auch bei Verdunstung kein Hydrazon erhalten werden.

Identifizierungswert der α-Methylphenylhydrazone

l-Arabinose, Fukose, d-Mannose und d-Galaktose können gut zur Abscheidung gebracht werden, Xylose, d-Glukose, d-Fruktose und d-Glukuronsäure nicht.

d-Glukuronsäure stört also in dieser Hinsicht nicht. Für Rhamnose gut, nach dem Eindampfen.

Für die Trennungen siehe Kapitel VIII.

d) α-Äthyl-, α-Allyl-, α-Amylhydrazone

Für diese Hydrazone, deren Identifizierungswert mit denen der α-Methylphenylhydrazone übereinstimmt, sei auf Alb. v. Ekenstein und Lobry de Bruyn (a. a. O.) verwiesen. Für die Amylphenylhydrazone auch auf Neuberg und Federer[1]). Weil die Hydrazine mir nicht zur Verfügung standen, wurden diese Hydrazone nicht dargestellt.

e) α-Benzylphenylhydrazone

1. l-Arabinose-α-Benzylphenylhydrazon

Lit.: Das bei „α-Methylphenylhydrazone" Geschriebene gilt auch hier.

Alb. v. Ekenstein und Lobry de Bruyn (a. a. O.) fanden einen Schmelzpunkt 170°.

Ruff und Ollendorff (a. a. O.) lösen beide Komponente in 75 %-A. auf; nach einiger Zeit entsteht ein Hydrazon, das aus 95 %-A. kristallisiert, bei 174° (korr.) schmilzt.

Browne und Tollens[2]) erhielten ein Hydrazon aus neutraler, alkoholischer Lösung. Das Hydrazon, aus 95 %-A. umkristallisiert, schmolz bei 169—170° (unkorr.).

Eigenschaften:

Farblos. α_D in CH_3OH = — 14,6° (c = ½). α_D in Eisessig = — 12,8° (Alb. v. E. und L. de B.). α_D in CH_3OH = — 12,1° (0,2276 g — 40 ccm). (Br. u. T.)

Darstellung und Schmelzpunkt:

½ g Arabinose in 4 ccm 75 %-A. wurde mit 700 mg des Hydrazins (Kahlbaum) in 2 ccm 75 %-A. schwach erwärmt. Bald

---

[1]) C. Neuberg und M. Federer, Über die Spaltung von Racemkörpern. Ber. 38, 868—874 (1905).

[2]) C. A. Browne und B. Tollens, Über die Bestandteile des Maismarkes usw. Ber. 35, 1457—1467 (1902) und Diss. Browne, Göttingen 1901.

wurde die Flüssigkeit kristallinisch fest. Nach Umkristallisierung aus 75 %-A. entstanden farblose Nädelchen. 1. Schmelzpunkt 173°, 2. 174°. Umkristallisierung aus 90 %-A. ergab 2° Schmelzpunkterniedrigung.

Also Schmelzpunkt 174°, also der R. und O.sche.

2. Xylose-α-Benzylphenylhydrazon

Lit.: Ruff und Ollendorff (a. a. O.) erhielten das Hydrazon durch schwaches Erwärmen einer wässerigen Xyloselösung mit einer absol. alkoholischen Hydrazinlösung. Das Gemisch wurde mit W. bis zur beginnenden Trübung behandelt. Der Schmelzpunkt war 99° (korr.).

Ofner (a. a. O.) erhielt das Hydrazon mit Schmelzpunkt 95—100° durch Einwirkung in essigsaurer Lösung. Durch Ä. und Ligroin wurde das Hydrazon als ein Sirup ausgeschieden, welcher bald kristallisierte. Nach Behandlung mit W. und mit Ä. wurde aus 30 %-A. umkristallisiert.

Eigenschaften:

Farblose Nädelchen, in Wasser 0,1 % löslich. In Ä. löslich, in A. sehr leicht löslich (R. und O.).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Behandelt, wie bei Arabinose angegeben, scheidet sich kein Hydrazon aus. Bei Verdünnung mit W. entsteht eine milchige, unfiltrierbare Flüssigkeit, in welcher nach Hinzugabe von W. und Essigsäure in einem Kältegemisch das Hydrazon kristallisiert. Die Kristalle wurden auf Saugfilter schnell mit Ä. gewaschen, aus 30 %-A. umkristallisiert und wieder mit Ä. gewaschen. Die Ausbeute ist gering. Es sind filzige, sehr schwach gelbliche Nädelchen ohne Spitze, in Pyridin sehr leicht löslich und vom Schmelzpunkt 95°.

3. Rhamnose-α-Benzylphenylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein und Lobry de Bruyn (a. a. O.) erhielten ein lichtgelbes Hydrazon mit Schmelzpunkt 121°.

Eigenschaften:

In W. sehr schwer, in abs. Methylalkohol leicht löslich. α_D in abs. $CH_3OH = -6{,}4^0$ ($c = 1/2$); in Eisessig $= -2{,}1^0$ ($c = 1/2$). (Alb. v. E. und L. d. B.)

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose angegeben, behandelt, scheidet sich kein Hydrazon aus. Mit W. verdünnt, kristallisiert bald ein Hydrazon. Nach Absaugen, Waschen mit Ä., wurde aus 30 %-A. umkristalli-

siert, wobei nach Abwaschung mit Ä. ein farbloses, aus feinen Nadeln (Besen und Feder) bestehendes Hydrazon zurückblieb. 1. Schmelzpunkt 122^0, 2. 124^0.

Also Schmelzpunkt 124^0.

4. Fukose-α-Benzylphenylhydrazon

Lit.: Müther (a. a. O.) erhielt aus einer wässerigen Fukoselösung und dem Hydrazin + Alkohol (zur Erhaltung einer klaren Flüssigkeit) nach 10 Min. schwachen Erwärmens in einer Nacht, ein gelbliches, flockiges Hydrazon. Schmelzpunkt 161^0. Nach mehreren Umkristallisierungen aus 96 %-A., ein vollkommen farbloses Hydrazon, mit Schmelzpunkt 172—173^0.

Votoček fand 179^0.

Eigenschaften:

Wie die des Methylphenylhydrazons. $\alpha_D = + 9,15^0$ (0,3024 g in 20 ccm Pyridin) (Müther).

Darstellung und Schmelzpunkt:

200 mg Fukose, wie bei Arabinose angegeben, behandelt, gaben bald ein Hydrazon, das nach 24 Stunden gesammelt, mit 75 %-A. gewaschen und aus 75 % A. umkristallisiert wurde. Es sind farblose, lange, haarförmige Nädelchen, 1. und 2. Schmelzpunkt 178^0. Nach abermaligem Umkristallisieren dasselbe.

Also Schmelzpunkt 178^0.

5. d-Glukose-α-Benzylphenylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein und Lobry de Bruyn (a. a. O.) erhielten ein lichtgelbes Hydrazon vom Schmelzpunkt 150^0.

Ruff und Ollendorff (a. a. O.) erhielten das Hydrazon aus neutral-alkoholischer Lösung (wie bei Xylose) mit Schmelzpunkt 165^0 (korr.).

Hoffmann (a. a. O.) erhielt aus alkoholisch-neutraler und aus essigsaurer Lösung dasselbe Hydrazon. Ersteres hatte einen Sinterpunkt 162^0 und einen Schmelzpunkt 163—164^0. Leicht in Pyridin, schwer in Ä., A. und W. löslich. Mutarotation. Anfangs $\alpha_D = - 46,33^0$. End $\alpha_D = - 48,26^0$. Das zweite einen Sinterpunkt 155^0 und Schmelzpunkt 157—158^0. Mutarotation. Anfangs α_D in Pyridin $= - 45,27^0$; End-$\alpha_D = - 47,65^0$ (Hoffmann). Sehr schwer in W. löslich. 100 ccm abs. A. 0,1 g, in 100 ccm CH_3OH 0,5. $\alpha_D = - 33^0$ (in CH_3OH, $c = 1/2$), $\alpha_D = - 20,2^0$ (in Eisessig $c = 1/2$). (Alb. v. E. und L. d. B.)

Darstellung und Schmelzpunkt:

Weder in der Weise, wie bei Arabinose beschrieben, noch nach Verdünnung mit W. entstand ein festes Hydrazon, nur ein öliges Produkt schied sich aus.

Nach der Hoffmannschen Arbeitsweise (a. a. O.) wurde aus $^1/_2$ g d-Glukose in 0,3 ccm W. + 0,6 g des Hydrazins in 3 ccm abs. A. nach einem Tage ein gelbliches Hydrazon erhalten, es wurde mit abs. A. und mit Ä. gewaschen. Schmelzpunkt ungefähr 144°. Nach Umkristallisierung aus 95 %-A. farblos, Schmelzpunkt 148 bis 149°. Nach nochmaligem Kristallisieren lange, dünne Nädelchen, 1. Schmelzpunkt 155°, 2. 156°. Eine zweite Kristallisation 150°. Nach abermaligem Umkristallisieren aus 95 %-A. Schmelzpunkt ungefähr 162°. Also ungefähr der R. und O.sche, und der Hoffmannsche.

6. d-Mannose-α-Benzylphenylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein und Lobry de Bruyn (a. a. O.) erhielten ein farbloses Hydrazon mit Schmelzpunkt 165°.

Eigenschaften:

Schwer in W., in abs. Methyl- und in abs. Äthylalkohol löslich. α_D in $CH_3OH = +29{,}8^0$ ($c = ^1/_2$), α_D in Eisessig $= -10{,}6^0$ ($c = ^1/_2$) (A. v. E. und L. d. B.).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose angegeben, behandelt, schied sich in 24 Stunden kein Hydrazon aus, wohl nach 2 × 24 Stunden. Nach 24 Stunden wurde nach Hinzugabe von W. und Essigsäure bald eine gelbe, dann eine farblose Kristallisation erhalten. Nach Abwaschung mit abs. A. und Ä., wurde aus 30 %-A. umkristallisiert, mit abs. A. und Ä. gewaschen. Mikroskopisch schmale und etwas breitere Nädelchen, in Pyridin ziemlich leicht löslich. 1. Schmelzpunkt 170°, 2. 170—171°.

7. d-Galaktose-α-Benzylphenylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein und Lobry de Bruyn (a. a. O.) erhielten ein lichtgelbes Hydrazon, Schmelzpunkt 154°.

Hoffmann (a. a. O.) erhielt aus neutral-alkoholischer Lösung schneeweiße Kristalle, Sinterpunkt 154°. Schmelzpunkt 155—156°. Aus warmem A. umkristallisiert resp. 156° und 157—158°.

Eigenschaften:

Schwer löslich in W. und in abs. A., wenig in Methylalkohol (100 ccm = 0,99). α_D in $CH_3OH = -17{,}2^0$ ($c = 0{,}5$) (A. v. E. und L. de B.).

Keine Birotation, α_D in Pyridin ($c = 4{,}5$) $= -14{,}3^0$. Aus essigsaurer Lösung derselbe Schmelzpunkt (Hoffmann).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, setzte sich in 24 St. kein Hydrazon ab, wohl in 2 × 24 St. Wurde nun nach den ersten 24 St. W. hinzugefügt, so schlug das Hydrazon sofort kristallinisch nieder. Das gelbe Hydrazon wurde schnell mit wenig abs. A. gewaschen. Nach Umkristallisierung aus 30 %-A. wurde eine Lösung von einem Öle abgegossen. Wurde nun aus 30 %-A. mit etwas Tierkohle umkristallisiert, so entstand in 24 Stunden ein gelber Niederschlag, der nach Abwaschung mit Ä. noch gelb ist. Nach Lösung in abs. A. und Mischung mit einem gleichen Volumen W., schlägt ein Hydrazon nieder, das nach Abwaschung mit abs. A. und mit Ä. farblos ist, beim Trocknen sehr schwach gelb. Schmelzpunkt 156°. Undeutliche Nädelchen, in Pyridin sehr leicht löslich. Nach Umkristallisierung aus abs. A. geringe Ausbeute. 1. Schmelzpunkt 156°, 2. 157—158°, also 157°.

8. d-Fruktose-α-Benzylphenylhydrazon

Konnte nicht erhalten werden.

9. d-Glukuron-α-Benzylphenylhydrazinverbindung

Lit.: Giemsa (a. a. O.) erhielt es, wie bei Phenylhydrazin angegeben, nach 10 Minuten Erwärmens. Sobald bei Abkühlung die ersten Kristalle sich bildeten, wurde mit einem Glasstabe gerieben und mit 10—20 Teilen W. allmählich gemischt. Aus heißem 90 %-A. umkristallisiert, 1 cm lange, schneeweiße, seidenglänzende Nadeln, Schmelzpunkt 141°.

Eigenschaften:

0,1 % in W. löslich, wenig in kaltem, leicht in heißem A. (Giemsa).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Weil die Bildung dieses Hydrazons in 75 %-A. nur für l-Arabinose und für Fukose charakteristisch ist, wurde studiert, wie das d-Glukuron sich in dieser Hinsicht verhält.

100 mg d-Glukuron wurden mit 4 ccm 75 %-A. und 150 mg des Hydrazins zu einer klaren Flüssigkeit schwach erhitzt. Die Lösung wurde rötlich gelb und nach 24 St. hatte sich nichts ausgeschieden. d-Glukuron wirkt also nicht störend auf die Identifizierung von Arabinose und Fukose.

Nun wurde durch Hinzufügung von W. und etwas Essigsäure eine Kristallisation erhalten, welche nach Absaugen, Abwaschen mit W. und mit Ä., aus 30 %-A. umkristallisiert wurde; es ent-

standen fast farblose, lange Nadeln. Nach abermaliger Umkristallisierung waren sie schwach rosa. 1. Schmelzpunkt 147°, 2. ebenso, also um 6° höher als der Giemsasche.

Wahrscheinlich liegt hier das α-Benzylphenylhydrazon vor, das aber für den Glukuronsäurenachweis fast wertlos ist.

Identifizierungswert der α-Benzylphenylhydrazone

Speziell für l-Arabinose und für Fukose geeignet, weil nur diese beiden das Hydrazon in 75%-A. ausscheiden. Nach 2 Tagen können unter denselben Bedingungen auch d-Galaktose und d-Mannose das Hydrazon ausscheiden, bleiben aber bei der Umkristallisierung aus 75%-A. in Lösung.

Für die Identifizierung von d-Glukuronsäure ist es weniger geeignet. d-Glukuronsäure stört daher die Arabinose und die Fukose nicht. Stört zwar die übrigen Monosaccharide außer Fruktose, doch ist dieses Hydrazin für diese Monosaccharide weniger geeignet.

f) β-Naphthylhydrazone

Das β-Naphthylhydrazin (Kahlbaum) wird einige Male mit W. ausgekocht, bis eine rosa-braune Verunreinigung ungelöst zurückbleibt. Nach Filtration der heißen Flüssigkeit kristallisiert das Hydrazin bei Abkühlung fast farblos aus. Nur dieses farblose Hydrazin soll benutzt werden. Beim Trocknen nämlich wird es rosa gefärbt, ist besonders an feuchter Luft und am Lichte empfindlich, und soll jedesmal aufs neue umkristallisiert werden.

I. l-Arabinose-β-Naphthylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein und Lobry de Bruyn (a. a. O.) erhielten ein lichtbraun gefärbtes, also unreines Hydrazon.

Ebenso wie Ruff und Ollendorff (a. a. O.) mit Arabinose und Benzylphenylhydrazin in neutral-alkoholischer Lösung schon bessere Resultate, wie in essigsaurer, erhielten, konnten Hilger und Rothenfußer[1]) die β-Naphthylhydrazone als farblose, warzenförmige Kristallagregate, darstellen, und zwar das der Arabinose mit Schmelzpunkt 176—177° (korr.) in der folgenden Weise:

1 g Arabinose, in 1 ccm heißem W. gelöst, wurde noch heiß mit einer heißen Lösung aus 1 g β-Naphthylhydrazin in 40 ccm 96%-A. behandelt. Die Kristalle wurden aus 96%-A. umkristallisiert.

---

[1]) A. Hilger und S. Rothenfußer, Über die Bedeutung der β-Naphthylhydrazone der Zuckerarten für deren Erkennung und Trennung. Ber. **35**, 1841—1845 (1902).

Der große Unterschied in der Farbe und im Schmelzpunkt zwischen diesen Kristallen und den A. v. E. und L. d. B.schen[1]) wird von letzteren als ein Unterschied der Isomerie zu erklären gesucht. Bei ihrer zweiten Arbeitsweise mit dem salzsauren Salz und Natriumazetat erhalten sie zwar eine weniger gefärbte Verbindung, behalten aber die Idee der Isomerie bei, damit begründend, daß ihr weniger gefärbtes Galaktose-β-Naphthylhydrazon ebenso wie das stärker gefärbte, bei 167° schmilzt und α_D (Auer) $+ 24°$ ist, indem das H. und R.sche Hydrazon ein α_D Auer $= + 10$ hat (0,4 % in CH_3OH).

H. und R.[2]) bekämpfen die Ansicht der Isomerie aus diesem Grunde, weil das braune Hydrazon durch einfache Umkristallisierung aus 96 %-A. leicht zu entfärben ist. A. v. E. und L. de B. (a. a. O.) hatten aus 30—50 %-A. umkristallisiert, und mit diesem die Verunreinigung nicht entfernt. Es war also von „Isomerie" keine Rede.

Hydrazone, außer den Nitro-Hydrazonen, sollen farblos sein, und sind nur gefärbt, wenn sie durch Osazonbildung usw. verunreinigt sind.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Nach der H. und R.schen Arbeitsweise wurde ¼ g Arabinose, alles im Verhältnis der dort genommenen Mengen, in Arbeit genommen.

Nach einigen Stunden wurde das farblose Hydrazon auf Saugfilter gesammelt und schnell mit 96%-A., dann mit Ä. gewaschen. Es waren mikroskopische, farblose, langgestreckte Blättchen, in Pyridin gut löslich. Aus A. (96 %) umkristallisiert, waren es gelblich-weiße Nädelchen, teilweise zu Besen vereinigt. 1. Schmelzpunkt 168—169°, 2. 174—175°. Nach Behandlung mit Tierkohle werden die Kristalle nicht schneeweiß, sondern bleiben schwachgelblich weiß. Schmelzpunkt 171—172°.

Der Schmelzpunkt 174—175° ist also nicht leicht zu erreichen, und wird also manchmal um 1° niedriger als der H. und R.schen gefunden.

2. Xylose-β-Naphthylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein und Lobry d. Bruyn (a. a. O.) erhielten auch dieses Hydrazon braun, mit Schmelzpunkt 70°.

Hilger und Rothenfußer (a. a. O.) mischten eine heiße Lösung aus 1 g Xylose in möglichst wenig Methylalkohol mit einer heißen Lösung aus 1 g des Hydrazins (Schmelzpunkt 124°—125°) in wenig Methylalkohol. Entstand in einigen Stunden eine Ausscheidung, so wurde noch etwas Methylalkohol zugegeben. Dann wurden noch 1—1,5 Vol. Amylalkohol hinzugefügt und über Schwefelsäure im Vacuum eingedampft. Die entstandenen warzenförmigen Kristallagregate wurden auf einem Saugfilter mit Ä. gewaschen.

---

[1]) W. Alberda v. Ekenstein und C. A. Lobry de Bruyn, Isomerie bei den β-Naphthylhydrazonen der Zucker. Ber. **35**, 3082—3085 (1902).

[2]) A. Hilger und S. Rothenfußer, Über die Bedeutung der β-Naphthylhydrazone usw. Ber. **35**, 4444—4453 (1902).

Die Lösung, Mischung und Eindampfung wurden wiederholt oder das Hydrazon mit Amylalkohol gerieben und im Wasserbade aufgelöst. Besser ist die Hinzufügung von Chloroform oder Benzol zum Lösungsmittel. Beim Schütteln entsteht ein Kristallmehl. Schmelzpunkt 123°—124°.

Eigenschaften:

Fast farblose Kristalle, leicht in Methylalkohol, in Äthylalkohol, in Azeton, schwer in Äthylazetat, sehr schwer in Benzol, Ä. und Chloroform löslich. In 100 ccm 96%-A. lösen sich bei 15° C 6,82 g des Hydrazons auf (H. und R.).

Darstellung und Schmelzpunkt:

In der Weise, wie bei Arabinose beschrieben, schied 1/4 g Xylose kein Hydrazon aus. Die Verbindung ist also für die Xyloseidentifizierung wertlos.

3. Rhamnose-β-Naphthylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein und Lobry de Bruyn (a. a. O.) erhielten ein braunes Hydrazon vom Schmelzpunkt 170°.

Darstellung und Schmelzpunkt:

In der Weise, wie bei Arabinose beschrieben, wurde aus 1/4 g Rhamnose nach 24 Stunden ein Hydrazon erhalten (nach einigen Stunden nichts). Es wurde mit A. und mit Ä. gewaschen. Mikroskopische, farblose Täfelchen, in Pyridin leicht löslich. 1. Schmelzpunkt 189°—190°, 2. 190°.

Aus 95%-A. umkristallisiert, wurden dieselben Kristalle erhalten, 1. Schmelzpunkt 193° sowie der 2.

Eine 2. Kristallisation, Schmelzpunkt 189°. Nach Umkristallisierung 1. Bestimmung 190°, 2. 192°. Der Schmelzpunkt des farblosen Hydrazons ist also 192°—193°.

4. Fukose-β-Naphthylhydrazon

Darstellung:

Dieses Hydrazon war noch nicht dargestellt. Wie bei Arabinose angegeben, behandelt, entstand ziemlich schnell ein farbloses Hydrazon, das auf einem Saugfilterchen mit A. und Ä. gewaschen wurde. Es sind mikroskopische, farblose Nädelchen, in Pyridin leicht, in siedendem 95%-A. sehr schwer löslich. Was in letzterem beim Sieden sich noch nicht löste, schmolz bei 1. Bestimmung 199°—200°, bei 2. 200°—201° unter Aufbrausen. Was gelöst war und wieder auskristallisierte, schmolz bei 200°—201°. Einige

Grade vorher trat Dunkelfärbung auf, dann plötzlich Schmelzen und Aufbrausen. Es sind kürzere, massivere Kristalle, keine Nädelchen. Eine 2. Kristallisation schmolz bei 196°, nach Umkristallisierung Schmelzpunkt 200°—201°.

Also Schmelzpunkt 200°—201°.

5. d-Glukose-β-Naphthylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein und Lobry de Bruyn (a. a. O.) erhielten ein braunes Hydrazon vom Schmelzpunkt 95°. Hilger und Rothenfußer (a. a. O.) erhielten ein gelbliches Hydrazon vom Schmelzpunkt 177°—178° (korr.) durch Einwirkung von 1 g d-Glukose in 1 ccm warmem W. auf 1 g des Hydrazins in 20 ccm heißem 96%-A. Kristallisierte nicht schnell in warzenförmige Agregate, welche auf Saugfilter mit Ä. gewaschen wurden. Aus der über Schwefelsäure teilweise verdunsteten Mutterlauge wurden wieder Kristalle erhalten. Sie wurden aus A. umkristallisiert.

Später erhielten A. v. E. und L. d. B. (a. a. O.) ein Hydrazon mit Schmelzpunkt 125° und niedriger Drehung, wie die früher erhaltene. Nach dem H. und R.schen Verfahren erhielten sie auch den Schmelzpunkt 178° ($\alpha_D = +11°$). Auch hier ist von Isomerie keine Rede, weil Hilger und Thamm[1]) ebenso in essigsaurer Lösung, aber dann aus starkem A. umkristallisierend, denselben Schmelzpunkt fanden, z. B. 187° für Mannose (siehe dort).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose angegeben, behandelt, scheidet sich nach 24 Stunden wenig Hydrazon aus. Nach 6 Stunden schlägt also nichts nieder. Nach Waschung mit A. und Ä. blieb ein graugelbes Hydrazon zurück, welches sich nicht aus 95%-A. umkristallisieren ließ. Nach einiger Zeit entstand eine 2. Kristallisation. Nach Abwaschung mit A. und Ä. waren es farblose, mikroskopische Prismenformen neben feinkristallinischer Masse. Schmelzpunkt ungefähr 65°, also sehr unreines Hydrazon.

Es waren hier also keine Anhaltspunkte für Identifizierung vorhanden, wenigstens nicht für Mengen von 1/4 g und weniger.

6. d-Mannose-β-Naphthylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein und Lobry de Bruyn (a. a. O.) erhielten ein braunes Hydrazon mit Schmelzpunkt 157°.

Hilger und Thamm (a. a. O.) erhielten das Hydrazon ungefähr nach dem Hilger-Rothenfußerschen Verfahren (a. a. O.) nach Umkristallisierung aus A. als farblose, feine Nädelchen, welche im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet, bei 186°—187° schmolzen, ebenso aus schwach sauer-wässeriger Lösung mit Schmelzpunkt 187°; also auch hier keine Isomerie.

---

[1]) A. Hilger und Thamm, Zur Kenntnis der Pflanzenschleime. Ber. **36**, 3197—3203 (1903).

Eigenschaften:

100 ccm A. lösen 52 mg Hydrazon auf (H. und T.)

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose angegeben, behandelt, entsteht bald ein rosagefärbtes, amorphes Hydrazon, das mit A. und Ä. gewaschen wurde. Sehr voluminös, nicht, wenn getrocknet. Nach Umkristallisierung farblos, undeutlich kristallinisch, in Pyridin leicht löslich. 1. Schmelzpunkt 179^0, 2. 182^0. Nach nochmaligem Umkristallisieren 1. Schmelzpunkt 178^0, 2. 182^0.

Nach dem H. und T.schen Verfahren (a. a. O.) wurde ein Hydrazon erhalten, das nach Umkristallisierung aus viel A. aus sehr feinen Täfelchen bestand. 1. Schmelzpunkt 186^0, 2. 187^0.

Also Schmelzpunkt 186^0—187^0.

d-Galaktose-β-Naphthylhydrazon

Lit.: A. v. Ekenstein und Lobry de Bruyn (a. a. O.) erhielten ein braunes Hydrazon vom Schmelzpunkt 167^0. Hilger und Rothenfußer (a. a. O.) ein farbloses Hydrazon vom Schmelzpunkt 189^0—190^0 (korr.). Später fanden A. v. E. und L. d. B. (a. a. O.) wieder 167^0 für das jetzt weniger gefärbte Hydrazon.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose angegeben, behandelt, scheidet sich ein schwach rosagefärbtes Hydrazon ab, das nach Abwaschung mit A. und mit Ä. undeutlich kristallinisch ist, leicht in Pyridin löslich, Schmelzpunkt 173^0, ist sehr schwer in 95$^0/_0$-A. löslich. Mit unzureichender Menge A. gekocht, wird ohne Filtration abgekühlt. Es kristallisieren kleine, zu Sternchen vereinigte Nädelchen aus, Schmelzpunkt 180^0—181^0. Nun wurde die Behandlung wiederholt, jedoch filtriert. Was gelöst war, kristallisierte aus. Schmelzpunkt 185^0. Was noch nicht gelöst war, schmolz bei 190^0, 2. Bestimmung 189^0.

Obschon dieses Hydrazon für Identifizierung nicht sehr geeignet ist, wurde der Schmelzpunkt nach H. und R. erreicht.

Also Schmelzpunkt 189^0—190^0.

8. d-Fruktose-β-Naphthylhydrazon

Lit.: Hilger und Rothenfußer (a. a. O.) erhielten aus 2 g Fruktose in 10 ccm Methylalkohol und 2 g des Hydrazins in 100 ccm Äthylalkohol ein Hydrazon, durch Hinzufügung von 30—40 ccm Chloroform oder Benzol in einigen Stunden. Das gelbe Hydrazon schmolz bei 161^0—162^0.

Darstellung: Aus $^1/_4$ g Fruktose konnte kein Hydrazon zur Abscheidung gebracht werden.

9. d-Glukuron-β-Naphthylhydrazinverbindung

Darstellung und Schmelzpunkt:

Diese Verbindung war noch nicht dargestellt. Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, wurden aus 100 mg d-Glukuron in 20 mg W. und 100 mg des Hydrazins in 4 ccm 96%-A., eine Kristallisation erhalten. Nach einigen Stunden wurde auf Saugfilter mit A. und Ä. gewaschen und wurde aus 95%-A. umkristallisiert. Es wurden 80 mg einer grauweißen, aus oft zentrisch gruppierten Nädelchen bestehenden Verbindung erhalten. Nach abermaligem Umkristallisieren wurden 50 mg erhalten, 1. Schmelzpunkt 165°, 2. 164°. Nach nochmaligem Umkristallisieren wurden schwach gelbliche, zu Warzen vereinigte Nadeln erhalten; der Schmelzpunkt war aber auf 160° gesunken, ist also etwas schwankend.

Also Schmelzpunkt 164—165°.

Es wurde nicht ermittelt, mit welcher Verbindung wir es hier zu tun haben, weil sie offenbar für den Glukuronsäurenachweis keinen besonderen Wert besitzt.

Identifizierungswert der β-Naphthylhydrazone

l-Arabinose, Fukose, Rhamnose, d-Mannose und d-Galaktose scheiden unter den geeigneten Bedingungen in einigen Stunden ein Hydrazon aus, d-Glukose nach 24 Stunden. Bei d-Mannose, d-Glukose und d-Galaktose ist ein richtiger Schmelzpunkt äußerst schwer zu erreichen.

Xylose und d-Fruktose scheiden unter den genannten Bedingungen kein Hydrazon aus. Für das d-Glukuron ist es ein ziemlich gutes Identifizierungsmittel; aus Mangel an Substanz wurde nicht ermittelt, in wie weit es ein brauchbares ist, wenn unreine Substanz vorliegt.

Jedenfalls müssen wir darauf gefaßt sein, daß das d-Glukuron die Identifizierung von Arabinose, Fukose, Rhamnose, Mannose und Galaktose stört.

g) Diphenylhydrazone

Kristalle des Diphenylhydrazins (der Firma Schuchardt) wurden auf einem Saugfilter von der Mutterlauge möglichst befreit. Sie wurden zerrieben und mit kaltem Ligroin gewaschen, wobei die Kristalle farblos zurückblieben. Nur dieses farblose Hydrazin soll benutzt werden.

1. l-Arabinose-Diphenylhydrazon

Lit.: C. Neuberg[1]) erhielt dieses Hydrazon durch Einwirkung einer konzentrierten wässerigen Arabinoselösung auf das Hydrazin in abs. A., bei gewöhnlicher Temperatur während 24 St., oder im Wasserbade während 15 Minuten. Farblose Nädelchen. N. fand Schmelzpunkt 218°.

Müther und Tollens (a. a. O.) erhielten nach dem von ihnen bei Methylphenylhydrazon angegebenen Verfahren, nach Umkristallisierung aus 96 %-A. + etwas Pyridin, ein in langen Nädelchen kristallisierendes Hydrazon, vom Schmelzpunkt 204—205°.

Neuberg[2]) behauptet später, sein Schmelzpunkt 216—218° sei richtig und der niedrige M. und T.sche Schmelzpunkt rühre von dem ungereinigten Kahlbaumschen Hydrazin her.

Tollens und Maurenbrecher[3]) geben jedoch wieder 204—205° an, nachdem das Kahlbaumsche Hydrazin durch Destillation gereinigt worden war.

Stahel[4]) gibt ebenso 204—205° an.

Eigenschaften:

0,2 g in 4 ccm reinem Pyridin + 6 ccm abs. A. in 1 dm Rohr = + 0° 42′ (Neuberg). $\alpha_D = +14{,}88^0$ (c = 1 in Pyridin) (Müther und Tollens).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Nach dem Müther- und Tollensschen Verfahren wurde aus ¼ g Arabinose bald ein Hydrazon erhalten als farblose Nädelchen, in Pyridin schwer löslich, Schmelzpunkt 197°. Umkristallisation aus 96 %-A. + Pyridin erhöhte den Schmelzpunkt nicht. Aus 96 %-A. kristallisierten glänzende Nädelchen, 1. Schmelzpunkt 199°, 2. 204°, also der M.- und T.sche Schmelzpunkt ist nicht leicht zu erreichen.

2. Xylose-Diphenylhydrazon

Lit.: Neuberg und Wohlgemuth[5]) fanden einen Schmelzpunkt 128°.

Darstellung:

Weder nach der Müther- und Tollensschen Arbeitsweise (a. a. O.) in 24 St. oder nach Eindampfung, noch nach der Stahel-

---

[1]) C. Neuberg, Über die Harnpentose, ein optisch inaktives, natürlich vorkommendes Kohlenhydrat. Ber. **33**, 2243—2254 (1900).

[2]) C. Neuberg, Die Methylphenylhydrazinreaktion der Fruktose. Ber. **37**, 4610—4618 (1904).

[3]) B. Tollens und A. D. Maurenbrecher, Über die Diphenylhydrazone der l-Arabinose und der Xylose. Ber. **38**, 500—501 (1905).

[4]) R. Stahel, Über einige Derivate des Diphenylhydrazins und Methylphenylhydrazins. Lieb. Ann. **258**, 242—251 (1890).

[5]) C. Neuberg u. J. Wohlgemuth, Über die Arabinose usw. Z. physiol. Chem. **35**, 40 (1902).

schen (a. a. O.), bei Rhamnose beschrieben, konnte ein Hydrazon dargestellt werden.

3. Rhamnose-Diphenylhydrazon

Lit.: Stahel (a. a. O.) ließ 1 Teil Rhamnose in abs. A. während 2 St. im Wasserbade auf 1,5 Teile des Hydrazins einwirken. Nach Verdampfung, mit Ä. kristallinisch fest. Aus heißem W. kristallisiert, waren es farblose, seidenglänzende Nädelchen, Schmelzpunkt 134° (unkorr.).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, entsteht in 24 St. nichts. Weiter, wie bei Stahel für Rhamnose verfahren, weiter mit Ä. und schnell mit A. gewaschen, resultierten stumpfe Nädelchen, in Pyridin sehr leicht löslich.

1. Schmelzpunkt 136°, 2. 135—136°.

4. Fukose-Diphenylhydrazon

Lit.: Müther (a. a. O.) erhielt dieses Hydrazon aus 3 g reiner Fukose in 20 ccm W. und 3 g Diphenylhydrazin (Kahlbaum), 96 %-A. und einigen Tropfen Pyridin. Nach ½ Stunde wurden lange, farblose Nädelchen gesammelt, welche nach Umkristallisierung aus 96 %-A., bei 198° schmolzen.

Eigenschaften:

Unlöslich in W. und in Ä., ziemlich leicht in 96 % A., noch leichter in 96 %-A. + Pyridin, sehr schwer löslich in verdünntem A. $\alpha_D = -15{,}77^0$ (2 dm Rohr, 0,417 g in 20 ccm Pyridin). (Müther und Tollens.)

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, entsteht erst nach einigen Stunden ein Hydrazon; am nächsten Tage wurden mikroskopisch feine, farblose Nädelchen erhalten, in Pyridin nicht leichtlöslich, Schmelzpunkt 105°. Nach Umkristallisierung aus 96 %-A., 1. Schmelzpunkt 195°, 2. 197—198°.

Also Schmelzpunkt 197—198°.

5. d-Glukose-Diphenylhydrazon

Lit: Stahel (a. a. O.) erhielt dieses Hydrazon durch Einwirkung einer konzentrierten, wässerigen Glukoselösung auf die alkoholische Hydrazinlösung. Nach 2 stündigem Erwärmen wurde der A. größtenteils verdampft und das Hydrazon mittels Ä. abgeschieden. Aus heißem W. umkristallisiert, Schmelzpunkt 161—162° (unkorr.).

Hilger und Rothenfußer (a. a. O.) erhielten in ungefähr derselben Weise seidenglänzende Kristalle. Schmelzpunkt 160—161°.

Eigenschaften:

In A. leicht, in Ä., Benzol und Chloroform fast unlöslich.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, entsteht in 24 St. nichts. Nach Eindampfung wurde mit abs. A. gemischt, wieder eingedampft und mit Ä. das Hydrazon zur Kristallisation gebracht. Aus W. umkristallisiert, sind es farblose Täfelchen oder zugespitzte Stäbchen, in Pyridin sehr leicht löslich. 1. Schmelzpunkt 155—156°, 2. 158°.

Die Ausbeute ist gering.

Nach dem Stahelschen Verfahren wurden kleine, glänzende prismatische Kristalle erhalten; aus W. umkristallisiert, seidenglänzende, flache, prismatische Formen, 1. Schmelzpunkt 160—161°, 2. 162°.

Also Schmelzpunkt 162°.

6. d-Mannose-Diphenylhydrazon

Lit.: Stahel (a. a. O.) erhielt das Hydrazon in der bei Glukose beschriebenen Weise, mit Schmelzpunkt 155° (unkorr.) als feine, farblose Prismen.

Eigenschaften:

Sehr schwer löslich in W.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, entsteht nach 24 St. kein Hydrazon. Weiter behandelt, wie bei d-Glukose angegeben, wurden Nädelchen, bisweilen mehr lange Prismen erhalten, in Pyridin leicht löslich. 1. Schmelzpunkt 159°, 2. 158—159°. Ausbeute gering.

Also Schmelzpunkt 158—159°.

7. d-Galaktose-Diphenylhydrazon

Lit.: Stahel (a. a. O.) erhielt das in farblosen, flachen Prismen kristallisierende Hydrazon, Schmelzpunkt 157°.

Eigenschaften:

Löslichkeit wie bei d-Mannose.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, entsteht in 24 St. nichts. Weiter wie bei d-Glukose behandelt, schließlich mit abs. A. und mit Ä. gewaschen, wurde das rosagefärbte Hydrazon beim Trocknen grau-gelblich. Es sind breite, flache Prismen, Schmelz-

punkt 157—158°. Die geringe Farbe beeinflußt den Schmelzpunkt nicht merklich; die farblosen Prismen Stahels schmolzen bei 157°.

Also Schmelzpunkt 157—158°.

8. d-Fruktose-Diphenylhydrazon

Unter keiner Bedingung konnte ein Hydrazon abgeschieden werden.

9. d-Glukuron-Diphenylhydrazinverbindung

Lit.: Neuberg (a. a. O., Ber. 1901) erhitzte eine konzentrierte, wässerige d-Glukuronlösung mit einer alkoholischen Hydrazinlösung während ¹/₄ St. im Wasserbade. Nach Abkühlung oder Hinzufügung von Ä. entstanden farblose Nädelchen, welche in den meisten organischen Lösungsmitteln kaum oder schwer löslich sind. Aus A., in welchem die Verbindung in der Wärme leicht löslich ist, kristallisieren bei schneller Abkühlung Nädelchen, Schmelzpunkt 150°.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Weil die Diphenylhydrazinverbindung für Arabinose und für Fukose charakteristisch ist, wurde versucht, unter den dort gegebenen Bedingungen aus 100 mg d-Glukuron die Diphenylhydrazinverbindung darzustellen.

Weder nach 24 St., noch nach Verdampfung gelang es, eine geeignete Verbindung zur Abscheidung zu bringen.

Identifizierungswert der Diphenylhydrazone

Das Diphenylhydrazon ist für Arabinose und für Fukose charakteristisch. Für Xylose und Fruktose ist es ungeeignet. Für die übrigen wenig geeignet.

Für das d-Glukuron ist es ungeeignet. d-Glukuron stört die Identifizierung von Arabinose und Fukose nicht.

h) p-, m- und o-Nitrophenylhydrazone

Das p-Nitrophenylhydrazin stammte von Kahlbaum.

Das m-Nitrophenylhydrazin wurde von mir[1]) nach der etwas modifizierten Bischler- und Brodskyschen Methode aus m-Nitroanilin dargestellt, Schmelzpunkt war 93°. Ebenso bei Kahlbaum erhältlich.

Das o-Nitrophenylhydrazin, sowie das m-Nitroanilin verdanke ich der Güte des Herrn Prof. Blanksma in Leiden. Letzteres wurde auch selbst bereitet. Ebenso bei Kahlbaum erhältlich.

---

[1]) A. W. van der Haar, Over de vorming van m-Nitrophenylhydrazine uit m-Nitroaniline volgens Bischler en Brodsky. Ch. W. **14**, 147 (1917).

I. l-Arabinose-, p-, m- und o-Nitrophenylhydrazone

α. p-Nitrophenylhydrazon

Lit.: Alberda v. Ekenstein und Blanksma[1]) erhielten das Hydrazon durch Erhitzen von 2 g Arabinose in 30 ccm 96 %-A. auf 2 g des Hydrazins während 10 Minuten im Wasserbade. Der Alkohol wurde im Exsikkator verdampft und der Rückstand aus A. umkristallisiert. Gelbe Kristalle, Schmelzpunkt 168°.

Reclaire[2]) erhielt nach derselben Methode ein Hydrazon mit Schmelzpunkt 181—182°.

Eigenschaften:

Wenig in A. löslich. $\alpha_D = + 48{,}3^0$ (in gleichen Volumen Pyridin und Methylalkohol) (A. v. E. und Bl.).

Darstellung und Schmelzpunkt:

¼ g Arabinose wurde mit 3 ccm 96 %-A. erhitzt, dann im Wasserbade mit ¼ g des Hydrazins, bis alle Arabinose umgesetzt war. Bald schied sich ein Hydrazon aus, das nach 24 St. auf Saugfilter mit 96 %-A. gewaschen wurde. Nach Umkristallisierung aus heißem 96 %-A. bestand das Hydrazon aus, aus Nädelchen zusammengesetzten, runden Körperchen von lichtgelber Farbe und war in Pyridin leicht löslich. 1. Schmelzpunkt 184°, 2. 182°. Nach abermaligem Umkristallisieren aus 95 %-A. wurden größere, aus Nädelchen bestehende gelbe Federn und Besen erhalten, Schmelzpunkt 181—182°.

Aus W. umkristallisiert, entstanden goldgelbe, glänzende Blättchen, Schmelzpunkt 186°.

Also Schmelzpunkt (aus 95 %-A.) 182°, (aus W.) 186°. Der erste ist der Reclairesche Schmelzpunkt.

β. m-Nitrophenylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein und Blanksma[3]) erhielten ein gelbes Hydrazon, Schmelzpunkt 182°.

Reclaire (a. a. O.) erhielt aus 2,5 g Arabinose in 15 ccm A. und möglichst wenig W. und einer Lösung aus 2,2 g des Hydrazins in 20 ccm A. nach Erhitzen im Wasserbade während 10 Min. ein Hydrazon; aus A. umkristallisiert eine rotgelbe Kristallmasse, Schmelzpunkt 179—180°.

---

[1]) W. A. v. Ekenstein und J. J. Blanksma, Sur quelques hydrazones dérivées de la p-Nitrophénil- et de la p-dinitrobenzylhydrazine. Rec. 22, 434—439 (1903).

[2]) A. Reclaire, Beiträge zur Kenntnis der Hydrazone der Zuckerarten. (Ber. 41, 3665—3675 (1908).

[3]) W. Alberda v. Ekenstein und J. J. Blanksma, Sur quelques hydrazones, dérivées des nitrophénylhydrazones p-, m- et o-. Rec. 24, 33—39 (1905).

Eigenschaften:

Ziemlich schwer in A. löslich (Reclaire), wenig in W. $\alpha_D = 0$ (Alb. v. E. und Bl.).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei „para“ beschrieben, behandelt, wurde bald ein Hydrazon erhalten, das nach 24 St. auf Saugfilter mit A. gewaschen wurde. Orangefarbene, mikroskopische Nädelchen. Ist erst in viel A. löslich, kristallisiert langsam aus. Nach 24 St. gelbrote, zentrisch gruppierte Kriställchen, gut in Pyridin löslich, Schmelzpunkt 184°.

γ. o-Nitrophenylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein und Blanksma (a. a. O.) erhielten das Hydrazon mit Schmelzpunkt 172°.

Reclaire (a. a. O.) ein rotgelbes Kristallpulver, Schmelzpunkt 180°.

Eigenschaften:

Ziemlich schwer in A. löslich (Reclaire). $\alpha_D = -21{,}4^0$ (A. v. E. und Bl.).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei „para“ beschrieben, behandelt, schied sich bald ein Hydrazon aus. Die orange-roten mikroskopischen Nädelchen wurden aus viel A. umkristallisiert. Es wurden feine, orangefarbene, verfilzte Nädelchen erhalten, in Pyridin leicht löslich. 1. Schmelzpunkt 182—183°, 2. 183°.

Also Schmelzpunkt 183°.

2. Xylose-p-, m- und o-Nitrophenylhydrazone.

α. p-Nitrophenylhydrazon

Lit.: Alberda v. Ekenstein und Blanksma (a. a. O.) erhielten das gut in A. lösliche Hydrazon mit Schmelzpunkt 156°.

Reclaire (a. a. O.) ein dunkelgelbes Pulver, mit Schmelzpunkt 154—155°.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, wurde nach 10 Min. eine Kristallisation erhalten. Nach 24 St. wurde nicht viel Hydrazon auf Saugfilter mit 95%-A. gewaschen. Bei Umkristallisierung aus wenig A. wurden dunkelgelbe, mehr oder weniger kompakte Kriställchen mikroskopisch prismatischer Form erhalten, in Pyridin leicht löslich, 1. Schmelzpunkt 159°, 2. 158—159°.

Durch die geringe Ausbeute wenig geeignetes Identifizierungsmittel für Xylose.

Also Schmelzpunkt 158—159°.

β. m-Nitrophenylhydrazon

Lit.: Reclaire (a. a. O.) erhielt dieses Hydrazon als ein gelbes Pulver mit unscharfem Sinterpunkt ungefähr 120° und Schmelzpunkt 130°.

Eigenschaften:

In A. ziemlich leicht löslich.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, beginnt nach ungefähr 1 Stunde die Kristallisation. Nach 24 St. wurden die entstandenen runden, schlecht entwickelten, gelben Kristalle mit A. gewaschen. Nach Umkristallisierung aus A. gelbe, glänzende Nädelchen, in Pyridin leicht löslich, 1. Schmelzpunkt 163—164°, 2. 163°. Also Schmelzpunkt 163°.

Gut brauchbares Identifizierungsmittel für Xylose.

γ. o-Nitrophenylhydrazon

Lit.: Reclaire[1]) erhielt das Hydrazon bei Winterkälte, Reinigung mittels Methylalkohols, worin es leicht löslich ist. Lange, rote Nadeln. Schmelzpunkt 123°.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Weder nach 24 St., noch nach Verdunstung scheidet sich aus $^1/_4$ g Xylose ein brauchbares Hydrazon aus, wohl ein dunkelbraunes.

3. Rhamnose-p-, m- und o-Nitrophenylhydrazone

α. p-Nitrophenylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein und Blanksma (a. a. O.) erhielten ein Hydrazon mit Schmelzpunkt 186°.

Reclaire (a. a. O.) erhielt, aus Alkohol kristallisierend, ein ziemlich schwer lösliches, rotgelbes Pulver, mit Schmelzpunkt 185°.

Eigenschaften:

$\alpha_D = +21,4^0$ (Alb. v. E. und Bl.).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, entsteht in 10 Min. ein Hydrazon, das nach 24 St. gesammelt, mit A. gewaschen und aus 95 %-A. umkristallisiert, orangegelbe Kristalle darstellt, von mikroskopisch langer, prismatischer Form, in Pyridin leicht löslich.

---

[1]) A. Reclaire, Nachtrag. Ber. 42, 1424—1425 (1904).

1. Schmelzpunkt 190°, 2. 190—191°. Nach abermaligem Umkristallisieren aus A. oder W., blieb der Schmelzpunkt 190—191°.

β. Nitrophenylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein und Blanksma (a. a. O.) erhielten ein Hydrazon vom Schmelzpunkt 156°.

Reclaire (a. a. O.) ein rotgelbes Hydrazon, 104—105°.

Eigenschaften:

$\alpha_D = -21{,}4^0$ (A. v. E. und Bl.).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, entstehen erst nach 24 St. wenig warzenförmige Kristallagregate, nicht schön kristallisiert. Umkristallisierung gelang nicht. Nach Konzentrierung der Lösung entstanden nach 24 St. harte, runde Kristallagregate, gelb, undeutlich kristallinisch, in Pyridin gut löslich.

1. Schmelzpunkt 160°, 2. 159—160°.

Also Schmelzpunkt 159—160°.

γ. o-Nitrophenylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein und Blanksma (a. a. O.) erhielten dieses Hydrazon als lichtgelbe Nädelchen, mit Schmelzpunkt 162°.

Reclaire (a. a. O.) aus A. ein gelbes Kristallpulver mit Schmelzpunkt 151°.

Eigenschaften:

$\alpha_D = -59^0$ (A. v. E. und Bl.).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei „para“ beschrieben, behandelt, entsteht nach 24 St. kein Hydrazon. Nach Konzentrierung entstehen in 24 St. bräunlichrote, aus feinen Nädelchen bestehende, runde Kristallagregate, in Pyridin gut löslich.

Schmelzpunkt 154°. Der A. v. E. und Bl.sche Schmelzpunkt (162°) konnte nicht erreicht werden.

4. Fukose-p-, m- und o-Nitrophenylhydrazone

Diese Hydrazone waren noch nicht dargestellt worden.

α) p-Nitrophenylhydrazon

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, kristallisiert bald ein Hydrazon aus. Nach 24 St. wurde auf Saugfilter mit A. gewaschen. Aus viel heißem A. umkristallisiert, entstehen gelbe,

glänzende, rhombenähnliche Blättchen, in Pyridin gut löslich. 1. und 2. Schmelzpunkt 210° (einige Grade vorher Braunfärbung). Nach abermaligem Umkristallisieren aus 95 %-A. erhöht sich der Schmelzpunkt nicht. Nach Umkristallisierung aus W. bräunlich gelbe Täfelchen, Schmelzpunkt 211°.

Also Schmelzpunkt 210—211°.

Analyse: $C_{12}H_{17}O_6N_3$. Gefunden: 13,5 % N.
112 mg Ber.: 14 % N.

β. m-Nitrophenylhydrazon

100 mg Fukose, wie bei „para“ behandelt, erzeugten bald ein Hydrazon, das, mit A. gewaschen, orangegefärbte, glänzende, mikroskopisch schmalere und breitere rechteckige Nädelchen darstellt. Nach Umkristallisierung aus 95 %-A. orangegefärbte, mikroskopisch lange, prismatische Kristalle, in Pyridin leicht löslich.

1. Schmelzpunkt 206—207°, 2. 204°.

Also Schmelzpunkt 204°.

Analyse: $C_{12}H_{17}O_6N_3$. Gef.: 13,6 % N. Ber.: 14 % N.

γ. o-Nitrophenylhydrazon

100 mg Fukose, wie bei „para“ behandelt, gaben ein Hydrazon, orangegelbe Kriställchen nach Abwaschung mit A. Nach Umkristallisierung aus A. schwach glänzende, gelborange Kristalle, mikroskopisch nadelförmiger, langer, flacher, prismatischer Form, in Pyridin gut löslich.

1. und 2. Schmelzpunkt 181°.

Analyse $C_{12}H_{17}O_6N_3$. Gef.: 13,4 % N. Ber.: 14 % N.

5. d-Glukose-p-, m- und o-Nitrophenylhydrazone

α. p-Nitrophenylhydrazon

Lit.: A. v. Ekenstein und Blanksma (a. a. O.) erhielten gelbe Kristalle, Schmelzpunkt 185°. Aus Eisessiglösung erhalten und aus A. umkristallisiert, entsteht das Isomer mit Schmelzpunkt 195° und $\alpha_D = -128,7°$.

Reclaire (a. a. O.) erhielt aus alkoholischer Lösung ein Hydrazon mit Schmelzpunkt 187—188° und aus Eisessig mit Schmelzpunkt 196°.

Eigenschaften:

Hydrazon, aus neutraler Lösung $\alpha_D = +21,5°$ (gleiche Teile Pyridin und Alkohol). Wenig in A. löslich (A. v. E. und Bl.).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, entsteht ein Hydrazon, das nach einigen Stunden auf Saugfilter gesammelt, mit A. gewaschen, aus 95 %-A. umkristallisiert wurde. Orangegelbe, glänzende Kriställchen, mikroskopisch langgestreckte, wahrscheinlich flache Prismen, in Pyridin ziemlich leicht löslich. 1. Schmelzpunkt 188°, 2. 188—189°. Nach abermaligem Umkristallisieren aus A. wurde Schmelzpunkt 190° gefunden. Aus W. kristallisiert, langgestreckte Täfelchen, Schmelzpunkt 189°.

Aus essigsaurer Lösung nach Alb. v. E. und Bl. (a. a. O.) entstehen bräunlich-gelbe, makroskopische Kristalle, Nadel-Prismaform. Nach Abwaschen mit W. und Umkristallisieren aus 95 %-A. entstehen schmälere und breitere Nadel-Prismenformen, in Pyridin ziemlich leicht löslich. 1. Schmelzpunkt 192°, 2. 190°. Nach abermaligem Umkristallisieren, 1. und 2. Schmelzpunkt 192°.

Also Schmelzpunkt 189° (aus neutraler Lösung), Schmelzpunkt 192° (aus essigsaurer Lösung).

β. m-Nitrophenylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein und Blanksma (a. a. O.) erhielten ein Hydrazon mit Schmelzpunkt 110°. Reclaire (a. a. O.) nach Verdampfung einer Glukoselösung in A. und wenig W. mit dem Hydrazin. Das aus A. umkristallisierte Hydrazon war eine gelbe, kristallinische Masse, Schmelzpunkt 115—116°.

Aus Eisessig entstand nach Reclaire (a. a. O.) ein Osazon statt eines Hydrazons.

Eigenschaften:

Leicht in siedendem A., wenig in W. löslich. $\alpha_D = -6{,}3^0$. (A. v. E. u. Bl.).

Darstellung:

Wie bei „para“ behandelt, entsteht in 24 St. nichts. Nach Verdampfung wird der Rückstand mit wenig A. auf das Saugfilter gebracht. Es bleibt wenig einer nichtkristallinischen, rot-orangefarbenen Substanz in runden Körperchen zurück. Nach abermaligem Lösen in A. und Verdunsten, bleibt eine orangegelbe, mehr oder weniger zähe Masse zurück. Mit wenig A. behandelt, bleibt wenig amorphe Substanz zurück. Werden mehr als 3 ccm A. benutzt, so scheidet sich nichts aus.

γ. o-Nitrophenylhydrazon

Lit.: Alberda v. Ekenstein u. Blanksma (a. a. O.) erhielten ein in lichtroten Nadeln kristallisierendes Hydrazon, mit Schmelzpunkt 158°.

Reclaire (a. a. O.) erhielt wie bei „meta“ beschrieben, ein gelbes Hydrazon aus alkoholischer Lösung, mit Schmelzpunkt 148°. Aus Eisessig wieder das Osazon.

Eigenschaften:

$\alpha_D = + 27,8^0$ (Alb. v. E. u. Bl.).

Darstellung:

Wie bei „para“ beschrieben, behandelt, entsteht in 24 St. kein Hydrazon. Nach Konzentrierung wenig eines braunroten Hydrazons, welches nicht in reines Hydrazon verwandelt werden konnte.

6. d-Mannose-p-, m- und o-Nitrophenylhydrazone

α. p-Nitrophenylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein u. Blanksma (a. a. O.) erhielten aus methylalkoholischer Lösung nach Verdunstung ein gelbes Hydrazon, das aus W. umkristallisiert, bei 190° schmolz. Aus essigsaurer Lösung ein Isomer, Schmelzpunkt 202°.

Reclaire (a. a. O.) erhielt ein Hydrazon mit Schmelzpunkt 194—195°. Aus Eisessig Schmelzpunkt 202°.

Eigenschaften:

Wenig in W. löslich (100 ccm lösen bei gewöhnlicher Temperatur 12 mg) (Alb. v. E. u. Bl.).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, kristallisiert bald ein Hydrazon, das nach 24 St. mit A. gewaschen und aus viel A. umkristallisiert, schwachgelbe, unter dem Mikroskop farblose, ziemlich langgestreckte, prismatische Kristalle darstellt, ziemlich leicht in Pyridin löslich. 1. Schmelzpunkt 202°, 2. 201°. Nach Umkristallisierung aus A. Schmelzpunkt 201—202°. Nach Umkristallisierung aus W. lichtbräunlichgelbe, mehr oder weniger langgestreckte Rhomben, 1. Schmelzpunkt 198°, 2. 197°. Die Kristallisation aus W. ist also weniger geeignet.

Aus saurer Lösung nach Alb. v. E. und Bl. entsteht ein graugelbes Hydrazon, das mit W. gewaschen und aus A. umkristallisiert, lichtgelb, aber unter dem Mikroskop farblos und von demselben Habitus wie das aus neutral-alkoholischer Lösung dargestellte ist. In Pyridin ziemlich leicht löslich. 1., 2., 3. Schmelzpunkt 202°. Weil also das aus neutral-alkoholischer Lösung entstandene Hydrazon denselben Schmelzpunkt wie das aus essigsaurer besitzt, ist es fraglich, ob wir es hier mit Isomerie zu tun haben, wie Alb. v. E. u. Bl. (a. a. O.) behaupten.

β. m-Nitrophenylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein und Blanksma (a. a. O.) erhielten ein Hydrazon mit Schmelzpunkt 162°.

Reclaire (a. a. O.) aus alkoholischer Lösung ein Hydrazon mit Schmelzpunkt 162—163°, schwachgelb. Aus Eisessig ein rotes Produkt mit unscharfem Schmelzpunkt 214°. Vielleicht mit Osazon verunreinigt.

Eigenschaften:

Gelbe Kristalle, leicht löslich in siedendem A., wenig in W. $\alpha_D = + 10{,}7^0$ (Alb. v. E. u. Bl.).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei „para“ beschrieben, behandelt, beginnt nach ungefähr $^1/_2$ St. die Kristallisation; nach 24 St. wird auf Saugfilter mit A. gewaschen. Gelbes, mikroskopisch undeutlich kristallinisches Hydrazon. In A. gelöst, kristallisiert es in einem Kältegemisch wieder aus. Nach zwei Tagen wurde ein lichtgelbes, amorphes, leicht in Pyridin lösliches Hydrazon erhalten, 1. Schmelzpunkt 167°, 2. 166—167°.

γ. o-Nitrophenylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein u. Blanksma (a. a. O.) erhielten ein Hydrazon mit Schmelzpunkt 171°.

Reclaire (a. a. O.) aus alkoholischer Lösung ein orangegefärbtes Hydrazon, aus methylalkoholischer ein gelbes. Schmelzpunkt 173° wie aus Eisessig.

Eigenschaften:

Lichtrote Nädelchen. $\alpha_D = + 16^0$ (Alb. v. E. u. Bl.).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei „para“ beschrieben, behandelt, entsteht bald ein Hydrazon, das nach 24 St. gesammelt, aus 95 % A. umkristallisiert, orangerote, verfilzte, mikroskopische Nädelchen darstellt, leicht löslich in Pyridin. 1. und 2. Schmelzpunkt 171°.

7. d-Galaktose p-, m- und o-Nitrophenylhydrazone

α. p-Nitrophenylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein u. Blanksma (a. a. O.) erhielten aus alkoholischer und aus essigsaurer Lösung ein Hydrazon mit Schmelzpunkt 192°.

Reclaire (a. a. O.) aus alkoholischer Lösung ein zitronengelbes Hydrazon, schwer löslich in W., Schmelzpunkt 194°.

Eigenschaften:

$\alpha_D = + 45{,}6^0$ (Alb. v. E. u. Bl.)

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, entsteht bald ein Hydrazon, das nach 24 St. mit A. gewaschen und aus 95 %-A. umkristallisiert, gelbe, glänzende, mikroskopische Täfelchen und Nädelchen darstellt, zentrisch gruppiert und in Pyridin leicht löslich. 1. und 2. Schmelzpunkt 194°. Nach abermaligem Umkristallisieren aus A. wieder 194°.

Aus W. kristallisiert, sind es goldgelbe, glänzende Täfelchen, 1. Schmelzpunkt 197°, 2. 196—197°.

Also Schmelzpunkt 194° (aus A.), 196—197° (aus W.).

β. m-Nitrophenylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein und Blanksma (a. a. O.) erhielten das Hydrazon mit Schmelzpunkt 182°.

Reclaire (a. a. O.) aus alkoholischer Lösung, wie bei Glukose beschrieben, Schmelzpunkt 181—182°.

Eigenschaften:

Gelbe Kristalle, leicht in siedendem A., wenig in W. löslich. $\alpha_D = 0$ (Alb. v. E. u. Bl.).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei „para“ angegeben, behandelt, entsteht bald ein Hydrazon, das nach 24 St. gesammelt und mit A. gewaschen, orangegelbe, zusammenhängende Nädelchen darstellt, nach Umkristallisierung aus 95 %-A. orangegelbe, schmälere und breitere Täfelchen, leicht in Pyridin löslich. 1. Schmelzpunkt 169°, 2. 169 bis 170°. Nach abermaligem Umkristallisieren aus A. orangegelbe Kristalle. 1. Schmelzpunkt 180°, 2. 181°.

Also Schmelzpunkt 181°.

γ. o-Nitrophenylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein und Blanksma (a. a. O.) erhielten das Hydrazon als lichtrote Nädelchen, Schmelzpunkt 178°.

Reclaire (a. a. O.) erhielt, wie bei Glukose, aus A. umkristallisiert, eine rotgelbe, voluminöse, kristallinische Masse, Schmelzpunkt 172°.

Eigenschaften:

$\alpha_D = -26{,}8^0$ (Alb. v. E. u. Bl.).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei „para“ angegeben, behandelt, entsteht bald ein Hydrazon. Nach 24 St. wurde eine teilweise kristallinische, teil-

weise amorphe Masse gesammelt. Nach Umkristallisierung aus A. dieselbe Erscheinung. Die wieder abgekühlte Lösung in absol. A. wird mit Petrol-Äther (Siedepunkt 60—80°) gemischt, bis eine amorphe Trübung auftritt. Aus der Lösung entstehen wieder amorphe Massen.

Jetzt wurde wieder $^1/_4$ g Galaktose mit $^1/_4$ g des Hydrazins und 10 ccm 95%-A. erhitzt, bis alle Galaktose verschwunden war. Bei Abkühlung entstehen wieder Kristalle mit amorpher Substanz. Nach Umkristallisierung aus A., wobei es auf langsame Abkühlung ankommt, entstehen Nädelchen und Federn. 1. Schmelzpunkt 175°, 2. 177—178°.

Also Schmelzpunkt 177—178°.

Zeigt große Neigung zu Amorphie.

8. d-Fruktose-p-, m- und o-Nitrophenylhydrazone

α. p-Nitrophenylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein und Blanksma (a. a. O.) erhielten das Hydrazon aus methylalkoholischer Lösung und nach Verdampfung des Lösungsmittels. Aus A. umkristallisiert, Schmelzpunkt 176°.

Reclaire (a. a. O.) fand denselben Schmelzpunkt.

Eigenschaften:

$\alpha_D = + 16^0$ (Alb. v. E. u. Bl.).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, entsteht bald ein Hydrazon, das nach 24 St. mit A. gewaschen würde. Aus A. umkristallisiert, gelbe, wollige, mikroskopisch nadelförmige Kristalle, leicht in Pyridin löslich. 1. Schmelzpunkt 180°, 2. 180—181°. Nach abermaligem Umkristallisieren sind es mehr lose, prismatische Nadeln, 1. und 2. Schmelzpunkt 180—181°. Umkristallisierung aus W. ist nicht empfehlenswert, weil ein amorphes Hydrazon sich ausscheidet, mit Schmelzpunkt 172°.

Also Schmelzpunkt 180—181°.

β. m-Nitrophenylhydrazon

Weder Alb. v. Ekenstein und Blanksma (a. a. O.) noch Reclaire (a. a. O.) und mir gelang es, dieses Hydrazon zu fassen.

γ. o-Nitrophenylhydrazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein und Blanksma (a. a. O.) erhielten dieses Hydrazon als lichtrote Nädelchen, Schmelzpunkt 162°.

Reclaire (a. a. O.) ein steinrotes Kristallpulver, Schmelzpunkt 155—156°.

Eigenschaften:

$\alpha_D = +31^0$ (Alb. v. E. u. Bl.).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei „para" angegeben, behandelt, entsteht bald ein Hydrazon, als gelb-orange, lange, dünne Nädelchen. Nach Umkristallisierung aus 95 %-A. lange, verfilzte, gelbe Nädelchen. Nach abermaligem Umkristallisieren wird eine orange-gefärbte Verunreinigung entfernt; die jetzt zitronengelben Kristalle schmelzen bei 1. und 2. Bestimmung, bei 156—157°, also der Reclairesche Schmelzpunkt. Der Alb. v. E. u. Bl.sche Schmelzpunkt 162° konnte nicht erreicht werden.

9. d-Glukuron-p-, m- und o-Nitrophenylhydrazinverbindungen

α. p-Nitrophenylhydrazinverbindung

Lit.: Alb. v. Ekenstein u. Blanksma (a. a. O.) haben das Hydrazon durch Erhitzen einer konzentrierten Laktonlösung in W. mit p-Nitrophenylhydrazin erhalten. Nach Umkristallisierung aus W. entstanden gelbe Kristalle vom Schmelzpunkt 225°.

Eigenschaften:

Schwer in A., Ä., Chloroform und kaltem W., gut in heißem W. löslich, aus welchem schöne Blättchen kristallisieren. $\alpha_D = -91,2^0$ (in Pyridin + Alkohol) (Alb. v. E. u. Bl.).

Darstellung und Schmelzpunkt:

100 mg d-Glukuron in 150 mg W. wurden, wie bei Arabinose beschrieben, mit 3 ccm abs. A. und 100 mg des Hydrazins während einiger Minuten im Wasserbade erhitzt. Fast sofort entstanden gelbe, mikroskopisch kleine Nädelchen. Nach einigen Stunden wurde abgesogen, mit A. und mit Ä. gewaschen und aus 95 %-A., in dem es sehr schwer löslich ist, umkristallisiert. Bei Abkühlung entstanden Kristalle, Schmelzpunkt 224°. Nach Umkristallisierung aus W. nach Alb. v. E. und Bl. (a. a. O.) entstanden wieder die Nädelchen, keine Blättchen, Schmelzpunkt 223°. Sie sind meistens zentrisch gruppiert. Die Ausbeute war gut und wurde also der Alb. v. E. und Bl.sche Schmelzpunkt fast erreicht.

Also Schmelzpunkt 224—225°.

β. m-Nitrophenylhydrazinverbindung

Diese Verbindung war noch nicht erhalten und es gelang mir nicht, sie, unter den bei „para" gegebenen Bedingungen, zu fassen.

γ. o-Nitrophenylhydrazinverbindung

Diese Verbindung war noch nicht erhalten.

Darstellung und Schmelzpunkt

Wie bei „para" angegeben, behandelt, wurden Kristalle erhalten. Nach einigen Stunden wurde auf Saugfilter mit A. und Ä. gewaschen und aus 95 %-A. umkristallisiert. Sie ist besser löslich, wie die Paraverbindung. Nach Abkühlung entstanden orangegefärbte, schöne, verfilzte Kristallnadeln. Schmelzpunkt 174°. Gute Ausbeute. Nach Umkristallisierung aus W. dieselben Nadeln, Schmelzpunkt 170°.

Also Schmelzpunkt (aus A.) 174°, (aus W.) 170°.

Identifizierungswert der p-Nitrophenylhydrazone

Liegen die Monosaccharide oder d-Glukuronsäure einzeln vor, so können in der angegebenen Weise l-Arabinose, Rhamnose, Fukose, d-Glukose, d-Mannose, d-Galaktose, d-Fruktose und d-Glukuronsäure auch neben Xylose identifiziert werden. Xylose also nicht. Nebeneinander können die Substanzen, nur mit p-Nitrophenylhydrazin, natürlich nicht identifiziert werden.

d-Glukuron stört also die 7 genannten Monosaccharide.

Identifizierungswert der m-Nitrophenylhydrazone

Kommen die Monosaccharide einzeln vor, so können in der beschriebenen Weise l-Arabinose, Xylose, Fukose, d-Mannose und d-Galaktose, auch neben Rhamnose, d-Glukose, d-Fruktose und d-Glukuronsäure identifiziert werden, weil letztere vier nicht niederschlagen, oder beim Umkristallisieren in Lösung bleiben.

d-Glukuron stört also nicht.

Identifizierungswert der o-Nitrophenylhydrazone

Kommen die Monosaccharide und d-Glukuronsäure einzeln vor, so können in der beschriebenen Weise l-Arabinose, d-Mannose, d-Galaktose, d-Fruktose und d-Glukuronsäure identifiziert werden, auch neben Xylose, Rhamnose und d-Glukose, welche nicht oder erst nach 24 St. niederschlagen.

d-Glukuronsäure stört also die fünf genannten Monosaccharide.

Über Trennungen mittels der drei Hydrazine siehe Kapitel VIII.

i) Benzhydrazide

Das Benzhydrazid, aus farblosen Kristallen bestehend, verdanke ich der Güte des Herrn Frhr. Alberda van Ekenstein in Amsterdam, der mir die nötige Menge verschaffte. Es wird jetzt von „Kahlbaum", Berlin, in den Handel gebracht.

Eine einfache Vorschrift für die Darstellung des Benzhydrazids findet sich in H. Meyer, Analyse usw. organ. Verbindungen, 1916, S. 676.

I. Einwirkung in alkoholischer Lösung

1. l-Arabinosebenzhydrazid

Lit.: Subaschow[1]) ließ die Komponente in alkoholischer Lösung während $^1/_2$ Stunde einwirken. Nach Abkühlung wurde das Hydrazid mit A. gewaschen und aus A. umkristallisiert. Farblose, dünne, glänzende Blättchen, Schmelzpunkt 184°.

Davidis[2]) gibt 211—212° an.

Eigenschaften:

Schwer in kaltem W., leicht in warmem löslich, fast unlöslich in kaltem, sehr schwer in heißem 96%-A., leicht in verdünntem A. löslich. Wird von warmem W. teilweise zersetzt.

Darstellung und Schmelzpunkt

$^1/_4$ g Arabinose wurde mit $^1/_4$ g des Hydrazins und 5 ccm 96%-A. erhitzt, bis alle Arabinose gelöst und umgesetzt war usw. Die farblosen, glänzenden Kristalle schmolzen bei 209°. Nach einmaligem Umkristallisieren aus 96%-A. ist der 1. Schmelzpunkt 210°, der 2. 212°. Ist sehr schwer in Pyridin löslich.

Also der Davidissche Schmelzpunkt 212°.

2. Xylose-Benzhydrazid

Dieses Hydrazid war noch nicht erhalten worden.

Darstellung und Schmelzpunkt

Wie bei Arabinose angegeben, behandelt, entsteht kein Hydrazid; nach Verdampfung der Flüssigkeit bleibt eine sirupöse Masse zurück, welche nach und nach kristallinisch fest wird. Nach Reibung mit Alkohol, Sammeln auf Saugefilter, Abwaschen mit W.,

---

[1]) E. Subaschow, Über eine Trennungsmethode der Galaktose und Arabinose. Z. Rüb. **46**, 270 (1896).

[2]) E. Davidis, Über Aldazine, Ketazine und Benzosazine von Aldosen und Ketosen. Ber. **29**, 2308—2311 (1896).

A. und Ä. bleibt ein farbloses Hydrazid zurück, das aus wenig A. umkristallisiert, farblose, glänzende, massive Kriställchen, gut in Pyridin löslich, darstellt. Schmelzpunkt 176°.

Analyse: 103,75 mg $C_{12}H_{16}O_5N_2$ gaben bei 13° und 760 m M. 9,6 ccm N.

Gef.: 10,88 % N. Ber.: 10,45 % N.

3. Rhamnose-Benzhydrazid

Dieses Hydrazid war noch nicht dargestellt.

Darstellung und Schmelzpunkt

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, scheidet sich das Hydrazid bald ab. Nach 24 St. gesammelt, mit A. gewaschen und aus A. umkristallisiert, ist das farblose Hydrazid amorph oder sehr undeutlich kristallinisch, in Pyridin schwer löslich. 1. Schmelzpunkt 186°, 2. 189°.

Durch die Amorphie ist der Schmelzpunkt unsicher und wurde keine N-Bestimmung ausgeführt.

Fukose-Benzhydrazid

Dieses Hydrazid war noch nicht erhalten.

Darstellung und Schmelzpunkt

Es entstand bald ein Hydrazid, das nach Umkristallisierung aus 96 %-A. farblose, glänzende Kristalle prismatischer Form darstellt, schwer in Pyridin löslich.

Schmelzpunkt 197°, der sich bei abermaliger Umkristallisierung nicht erhöhte.

Analyse: 139 mg $C_{13}H_{18}O_5N_2$ gaben 11,2 ccm N. bei 18° und 764 m M. Gef.: 9,69 % N. Ber. 9,92 % N.

5. d-Glukose-Benzhydrazid

Lit.: Wolff[1]) erhielt das Hydrazid durch Erhitzen von pulverisierter Glukose mit dem Hydrazin in 96 %-A während 5—6 St. Nach fast völliger Austrocknung entstanden feine Nädelchen, welche aus A. umkristallisiert, bei 171—172° schmolzen.

Davidis (a. a. O.) erhielt einen Schmelzpunkt 195—196°. Lobry de Bruyn und Alberda v. Ekenstein[2]) 186—187°.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, wurde aus 1/4 g kein Hydrazid abgeschieden, ebenso nach Eindampfen kein festes

---

[1]) H. Wolff, Über Dextrosebenzhydrazid. Ber. 28, 160—163 (1895).

[2]) C. A. Lobry de Bruyn und W. Alb. v. Ekenstein, Action des alcalis sur les sucres. Rec. 14, 203—216 (1895).

Hydrazon. Wurde jedoch längere Zeit erwärmt, z. B: einige Stunden, so schied sich ein Hydrazid aus, das nach Eindampfen der Flüssigkeit, auf Saugfilter mit W., A. und Ä. gewaschen wurde. Nach Umkristallisierung aus 95%-A. wurde ein farbloses, schön kristallinisches Hydrazid erhalten, mit Schmelzpunkt 193°, also fast der Davidissche.

6. d-Mannose-Benzhydrazid

Dies Hydrazid war noch nicht dargestellt.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, schlägt in einigen Stunden nichts nieder; nach 24 St. wurden wenig warzenförmige Kristalle gesammelt, mit A. gewaschen, und aus 95%-A. umkristallisiert; nach 24 St. wurden die nicht vollkommen farblosen, warzenförmigen Agregate, aus Nädelchen bestehend, gesammelt. 1. Schmelzpunkt 188°, 2. 185°.

Also Schmelzpunkt nicht ganz scharf 185°.

Analyse: 106 mg $C_{13}H_{18}O_6N_2$ gaben 8,4 ccm N bei 19,5° und 765 m M. Also: Gef. 9,1%, ber. 9,39%.

7. d-Galaktose-Benzhydrazid

Lit.: Subaschow (a. a. O.) erhielt in der von ihm beschriebenen Weise, nach Umkristallisierung aus 96%-A., farblose, langgestreckte, rechteckige Täfelchen, Schmelzpunkt 178°.

Eigenschaften:

In kaltem W. schwer, in heißem leicht, ziemlich leicht in heißem A., schwer in kaltem 96%-A. löslich. In heißem W. teilweise Zersetzung (Subaschow).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, jedoch nach Lösung des 1/4 g Galaktose in 1/4 g W. und Hinzufügung von 7 ccm abs. A., kristallisiert bald ein farbloses Hydrazid, das mit W., A. und Ä. gewaschen wurde. Es sind farblose, prismatische Kristalle, schwer in Pyridin löslich, Schmelzpunkt 189°. Nach Umkristallisierung aus 95%-A. 1. Schmelzpunkt 193°, 2. 192—193°, also 15° höher als der Subaschowsche.

8. d-Fruktose-Benzhydrazid

Dieses Hydrazid war noch nicht erhalten, und konnte ebenso von mir nicht dargestellt werden.

II. Einwirkung in Wasser

Subaschow (a. a. O.) fand, daß Arabinose in wässeriger Lösung ein Benzhydrazid ausscheidet, Galaktose dagegen nicht. Ich kann das bestätigen und erweitern in der Weise, daß keins der Monosaccharide als Hydrazid niederschlägt. Die Reaktion ist also in dieser Weise für l-Arabinose charakteristisch. Indessen stellte es sich heraus, daß ebenso die d-Glukuronsäure sich wie die l-Arabinose verhält.

1. l-Arabinose-Benzhydrazid

$^1/_4$ g Arabinose in 3 ccm Wasser wurde $^1/_4$ g des Hydrazins zugegeben. Nach allmählichem Verschwinden des Hydrazins kristallisierte das Hydrazid aus. Nach einigen Umkristallisierungen aus 95%-A. war der Schmelzpunkt 207°, also 4—5° niedriger als der des aus alkoholischer Lösung entstandenen Hydrazids.

Bei den übrigen Monosacchariden entstand in 2 Tagen kein Hydrazid, bei Rhamnose nach 3 Tagen ein Hydrazid.

2. d-Glukuron-Benzhydrazidverbindung

Diese Verbindung war noch nicht dargestellt. Weil das Benzhydrazid in wässeriger Lösung für die l-Arabinose charakteristisch ist, wurden unter den dort gegebenen Bedingungen 100 mg d-Glukuron in 2 ccm W. und 100 mg des Hydrazins in Reaktion gebracht. In 24 St. kristallisierte die Hydrazinverbindung in langen Nädelchen aus. Nach Abwaschen mit W. und Trocknen war der Schmelzpunkt 160°. Nach Umkristallisierung aus 95%-A. wurden kurze, massive, farblose, glänzende Kristalle erhalten, nicht schnell in Pyridin lösend. 1. Schmelzpunkt 160°, 2. 160—161°.

Identifizierungswert der Benzhydrazide

I. Aus alkoholischer Lösung

Aus alkoholischer Lösung können identifiziert werden: l-Arabinose, Rhamnose, Fukose, vielleicht d-Glukose, d-Mannose bei etwas größeren Mengen und d-Galaktose, indem Xylose und d-Fruktose nicht niederschlagen. Xylose zwar bei Verdampfung, ebenso wie d-Glukose; d-Fruktose jedoch nicht. Es ist also eine Aldose-Reaktion.

II. Aus wässeriger Lösung

Aus wässeriger Lösung schlagen nur l-Arabinose und d-Glukuronsäure nieder. Rhamnose erst nach längerer Zeit (drei Tagen). Siehe für Trennungen Kapitel VIII.

j) p-Brombenzhydrazide

Das Hydrazid wurde nach der Kahlschen Vorschrift[1]) leicht und nicht teuer erhalten, durch Erhitzung von 8,2 g einer 50%-igen Hydrazinhydratlösung (käuflich), 10 g p-Brombenzoësäure-Äthylester und 12 ccm 95%-A. während vier Stunden. Nach Abkühlung kristallisiert das Hydrazid aus. Nach Umkristallisierung aus 90%-A. Schmelzpunkt 168° (Kahl 164°). Wird jetzt von „Kahlbaum", Berlin, in den Handel gebracht.

1. l-Arabinose-p-Brombenzhydrazid

Lit.: Kahl (a. a. O.) erhitzte während zwei Stunden 3,8 g l-Arabinose mit 4 g des Hydrazins in 45 ccm 95%-A. und erhielt ein farbloses, mikrokristallinisches Hydrazid mit einem Zersetzungspunkt 215—216°. Ebenso wurde derselbe Schmelzpunkt aus essigsaurer Lösung erreicht.

Eigenschaften:

Unlöslich in allen Lösungsmitteln, außer Pyridin (Kahl).

Darstellung und Schmelzpunkt:

¼ g l-Arabinose wurde nach den Kahlschen Angaben mit 270 mg des Hydrazins und 5 ccm 95%-A. während ½ Stunde im Wasserbade erhitzt. Während des Erhitzens schied das Hydrazid sich aus, es wurde nach 24 St. gesammelt und mit A. gewaschen. Es ist in A. äußerst schwer löslich. Nach Erhitzung mit zur völligen Lösung nicht ausreichenden Menge A. und Abkühlung ohne Filtration wurden nach 24 St. zentrisch gruppierte, feine Nädelchen erhalten, schwer in Pyridin löslich. 1. Schmelzpunkt 215°, 2. 210°, 3. und 4. 208°. Nach Umkristallisierung aus viel A. wurden nach 24 St. silberglänzende, zusammenhängende, mikroskopische, langgestreckte Kriställchen erhalten. Schmelzpunkt 216° unter Aufbrausen.

2. Xylose-p-Brombenzhydrazid

Lit: Kahl (a. a. O.) erhielt es aus essigsaurer Lösung mit Zersetzungspunkt 258—260°.

---

[1]) R. Kahl, Über die Paarung von Säurehydraziden mit Zuckerarten. Diss. Freiburg 1904.

Eigenschaften:

Unlöslich in allen von Kahl benutzten Lösungsmitteln. In Pyridin leicht löslich, jedoch wird das Hydrazid dabei gespalten.

Darstellung:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, kristallisierte in 24 St. kein Hydrazid. Hier also ein Unterschied mit Arabinose.

3. Rhamnose-p-Brombenzhydrazid

Lit.: Morrell und Crofts (a. a. O.) erhielten es aus alkoholischer Lösung in rhomboëdrischen Täfelchen. Schmelzpunkt 167°.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei l-Arabinose beschrieben, behandelt, jedoch während 2 St. erhitzt, scheidet sich ein Hydrazid ab; es wurde nach 24 St. gesammelt. Es ist in nicht zuviel A. löslich. Nach 24 St. wurden farblose, silberglänzende, verfilzte, feine Nädelchen, in Pyridin leicht löslich, erhalten. 1. Schmelzpunkt 189°, 2. 191° unter Aufbrausen.

Also Schmelzpunkt 191°.

4. Fukose-p-Brombenzhydrazid

Dieses Hydrazid war noch nicht dargestellt. Wie bei l-Arabinose beschrieben, behandelt, kristallisierte das Hydrazid während der Erhitzung. Nach 24 St. aus A. umkristallisiert, wurden farblose, mikroskopische Nädelchen und rhomboëdrische Täfelchen, ziemlich schwer in Pyridin löslich, erhalten. 1. Schmelzpunkt 209°, 2. 209°, 3. 205°, also nicht ganz scharf 205—209°.

Analyse: 101,25 mg $C_{13}H_{17}O_6N_2Br$ gaben 6,3 ccm N bei 15° und 764 m M. Gef.: 7,29 % N, ber.: 7,43 % N.

5. d-Glukose-p-Brombenzhydrazid

Lit.: Kahl (a. a. O.) erhielt es mit Schmelzpunkt 200—202° bei langsamer Bestimmung und 206—207° bei schneller.

Eigenschaften:

In W. und in anderen Lösungsmitteln schwer, in Pyridin leicht löslich. Wird aus diesem von Ä. niedergeschlagen.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, scheidet sich bald ein Hydrazid aus, das aus A. umkristallisiert, mikroskopisch sehr feine Nädelchen, in Pyridin ziemlich gut löslich, darstellt.

Schmelzpunkt 201°.

6. d-Mannose-p-Brombenzhydrazid

Lit.: Kahl (a. a. O.) erhielt mikrokristallinische, flache Prismen, welche von Pyridin gespalten werden. K. meldet keinen Schmelzpunkt.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, scheidet sich das Hydrazid während des Erhitzens ab. Nach 24 St. wurde aus 95 %-A., in welchem es sehr schwer löslich ist, umkristallisiert. Farblose, glänzende, mikroskopische drei- bis vieleckige Täfelchen, in Pyridin ziemlich gut löslich. 1. Schmelzpunkt 197°, 2. 198°. Also Schmelzpunkt 198°.

7. d-Galaktose-p-Brombenzhydrazid

Lit.: Kahl (a. a. O.) erhielt das Hydrazid in mikrokristallinischen Prismen mit Zersetzungspunkt 216°. Wird von Pyridin leicht gespalten.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, und so lange erhitzt, bis alle Galaktose umgesetzt war, scheidet sich ein Hydrazid aus, das nach 24 St. gesammelt, in A. gelöst wurde, wobei nach Konzentrierung der Flüssigkeit, farblose, prismatisch aussehende Kristalle, schwer in Pyridin löslich, auskristallisierten. 1. Schmelzpunkt 213°, 2. 213—214°.

8. d-Fruktose-p-Brombenzhydrazid

Weder von Kahl (a. a. O.), noch von E. C. Kendall und H. C. Sherman[1]) oder von mir konnte das Hydrazid dargestellt werden.

9. d-Glukuron-p-Brombenzhydrazidverbindung

Diese Verbindung war noch nicht dargestellt. Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, und während einer Stunde erhitzt, entstand ein Hydrazid, das nach einigen Stunden mit 95 %-A. gewaschen und aus A. umkristallisiert, farblose Kristalle vom Schmelzpunkt 124° darstellte. Nach abermaligem Umkristallisieren waren es silberglänzende, mehr tafelförmige Kristalle, 1. Schmelzpunkt 126°, 2. 127—128° unter Aufbrausen.

Identifizierungswert der p-Brombenzhydrazide

Kommen die Monosaccharide und d-Glukuronsäure einzeln vor, so können identifiziert werden: Arabinose,

[1]) Durch Chem. Centralbl. 1293 (1908).

Rhamnose, Fukose, Glukose, Mannose, Galaktose und d-Glukuronsäure, auch neben Xylose und Fruktose. Für d-Glukuronsäure ist es ein ziemlich gutes Identifizierungsmittel.

Von Wichtigkeit ist aber, daß sie obengenannte sechs Monosaccharide stört, weil sie ebenso unter denselben Bedingungen niederschlägt.

Siehe für Trennungen Kapitel VIII.

k) p- und o-Nitrobenzhydrazide

Das p-Nitrobenzhydrazin wurde nach der Kahlschen Vorschrift dargestellt. Es stellte nach Umkristallisierung aus W. ein in langen Nädelchen kristallisierendes Hydrazin dar. Schmelzpunkt 211—212° (Kahl 210°).

Das o-Nitrobenzhydrazid wurde nach derselben Methode dargestellt, wobei die erhaltene sirupöse Masse mit Ä. kristallinisch fest wurde. Eine lichtgelbliche Substanz, welche nicht gut aus W. oder aus A. umkristallisiert werden konnte. Nach Lösung in abs. A. wurden nach Hinzufügung gleichen Volumens Petrol-Äther bald schön kristallinische, silber- oder seidenglänzende Blättchen erhalten, Schmelzpunkt 121°.

l. l-Arabinose-p- und o-Nitrobenzhydrazide

α. p-Nitrobenzhydrazid

Lit.: Dieses ist offenbar das Hydrazid, das Radenhausen[1]) durch Erhitzung einer alkoholischen Lösung eines Mols Arabinose mit einem Molekel des Hydrazids, Abdestillierung bis fast zur Trockne, erhielt. Mit A. und Ä. gewaschen, und aus A. umkristallisiert, waren es schneeweiße Täfelchen. Schmelzpunkt 178°.

Eigenschaften:

In heißem A. leicht, in kaltem W. und in Ä. unlöslich; wird von heißem W. zersetzt (Radenhausen).

Darstellung und Schmelzpunkt:

$^1/_4$ g Arabinose, 300 mg des Hydrazins wurden mit 5 ccm 95 %-A. bis zur völligen Lösung der Arabinose erhitzt. Das bald auskristallisierende Hydrazid wurde nach 24 St. aus 95 %-A. umkristallisiert. Nach Konzentrierung des Alkohols wurde nach 24 St. ein gelblich weißes Hydrazid als mikroskopisch kleine, massive, fast

---

[1]) R. Radenhausen, Weiteres über die Verbindung von Zuckerarten mit prim. Hydrazinen. Z. Rüb. **44**, 768—770 (1894).

farblose Kriställchen, in Pyridin gut löslich, gesammelt. 1. Schmelzpunkt ungefähr 180° (Aufbrausen 182°). 2. Schmelzpunkt 180°. Nach abermaligem Umkristallisieren aus 95%-A. schmolz das grauweiße Hydrazid, 1. Best.: 185°, 2. 186° (Braunfärbung von 178° an).

Also Schmelzpunkt 186°.

β. o-Nitrobenzhydrazid

Das Hydrazid war noch nicht dargestellt.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei „para" beschrieben, behandelt, schied sich in 24 St. nichts aus. Nach Verdampfung wurde mittels Ä. und A. das Hydrazid zur Abscheidung gebracht, und aus A. umkristallisiert. Nach einem Tage wurde eine schwachgelbe, in Warzen kristallisierende Verbindung erhalten, in Pyridin gut löslich. Schmelzpunkt 141°, 2. 143°. Nach abermaligem Lösen in A. blieb viel in Lösung; bei Winterkälte kristallisiert wenig aus, Schmelzpunkt 146°. Eine N-Bestimmung gab 11,8% N., statt der theoretischen 13,4%. Es ist daher sehr wahrscheinlich, daß das Hydrazid nicht ganz rein war, daher wird der Schmelzpunkt auch unsicher sein.

2. Xylose-p- und o-Nitrobenzhydrazid

α. p-Nitrobenzhydrazid

Dieses Hydrazid war noch nicht dargestellt.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, kristallisiert bald ein Hydrazid aus. Nach 24 St. gesammelt, stellt es ein graugelbliches Hydrazid unbestimmter Form dar, in Pyridin leicht löslich. Aus dem konzentrierten Filtrat konnte noch etwas Hydrazid erhalten werden. 1. Schmelzpunkt 154°, 2. 156°.

Nach abermaligem Umkristallisieren aus A. kristallisiert nicht viel aus. Grauweißes Hydrazid 1. Schmelzpunkt 153°, 2. 154 bis 155°. Es scheint sich neben dem Hydrazid etwas freies Hydrazin abgeschieden zu haben, denn eine N-Bestimmung ergab 17,4% (theor. 13,4%). Das scheint in konstanten Verhältnissen stattzufinden, denn das Hydrazid einer zweiten Darstellung schmolz ebenso bei 154—155°.

β. Das o-Nitrobenzhydrazid konnte nicht erhalten werden.

3. Rhamnose-p- und o-Nitrobenzhydrazide

α. p-Nitrobenzhydrazid

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, scheidet sich nur das freie Hydrazin wieder aus.

β. o-Nitrobenzhydrazid

Dieses Hydrazid war noch nicht dargestellt. Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, entsteht in 24 St. nichts. Nach Verdampfung wurde mit Ä. und A. gerieben, das abgeschiedene Hydrazid mit A. und Ä. gewaschen und aus W. umkristallisiert. In 24 St. entstehen farblose, mikroskopische Nädelchen, in Pyridin gut löslich. Schmelzpunkt 182°, 2. 184—185°. Nach Umkristallisierung aus W. Schmelzpunkt 185—186°.

Analyse: 111 mg $C_{13}H_{17}O_7N_3$ gaben 12,8 ccm N, bei 15° und 758 m M. Gef.: 13,4% N, ber.: 12,9%.

4. Fukose-p- und o-Nitrobenzhydrazide

α. p-Nitrobenzhydrazid

Dieses Hydrazid war noch nicht dargestellt. Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, scheidet sich in 24 St. ein Hydrazid aus in glänzenden Kriställchen, in Pyridin schwer löslich. Nach Umkristallisierung aus A. Schmelzpunkt 196° (unsicher).

Es hat sich wahrscheinlich neben dem Hydrazid etwas freies Hydrazin ausgeschieden, denn eine N-Bestimmung gab 15,15% N an, statt der theoretischen 12,9%.

β. o-Nitrobenzhydrazid

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, entstand aus 100 mg Fukose nichts. Nach Verdampfung, Reibung mit Ä. und A. wurde eine farblose Verbindung erhalten, nach Umkristallisierung aus farblosen, mikroskopischen Nädelchen, in Pyridin ziemlich gut löslich, bestehend. 1. Schmelzpunkt 187°, 2. 187—188°. Es kommt vor, daß keine feste Masse erhalten wird. Nach Umkristallisierung gelingt es, und wurde ein Schmelzpunkt 187—188° gefunden. Eine N-Bestimmung ergab einen zu niedrigen Wert. Die Substanz war also offenbar kein reines Hydrazid.

5. d-Glukose-p- und o-Nitrobenzhydrazid

α. p-Nitrobenzhydrazid

Lit.: Herzfeld[1]) konnte nach der Radenhausenschen Vorschrift keine Glukoseverbindung erhalten. Nach H. kristallisierte aber ein Hydrazid, wenn gleiche Teile wasserfreier Glukose und Hydrazin in 96%-A. während 1 Stunde erhitzt wurden.

Eigenschaften:

Wenig in W. und in A. löslich, leichter in Methylalkohol (Herzfeld).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, schied sich nur das freie Hydrazin mit Schmelzpunkt 209° aus.

β. o-Nitrobenzhydrazid

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, scheidet sich nach Konzentrierung eine geringe Menge Substanz ab, als farblose, massive Kristalle, ohne deutliche Form, in Pyridin leicht löslich, mit unscharfem Schmelzpunkt ungefähr 150°. Nach Umkristallisierung sehr unscharf ungefähr 140°, also hatte sich wahrscheinlich neben Hydrazid freies Hydrazin abgeschieden.

6. d-Mannose-p- und o-Nitrobenzhydrazide

Keines der beiden Hydrazide konnte erhalten werden. Bei „para" schied sich das freie Hydrazin aus; bei „ortho" nur eine Flüssigkeit.

7. d-Galaktose-p- und o-Nitrobenzhydrazide

Wie bei d-Mannose.

8. d-Fruktose-p- und o-Nitrobenzhydrazide

Weder Kahl (a. a. O.) noch Kendall und Sherman (a. a. O.) oder mir gelang es, das „para"-Hydrazid darzustellen. Nur das freie Hydrazid schied sich aus.

Ebenso war das mit dem „ortho" der Fall.

Identifizierungswert der p-Nitrobenzhydrazide

Das Hydrazid ist von geringem Wert und kann überdies nur für Arabinose dienen, da bei den andern nur das Hydrazin oder ein Gemisch mit dem Hydrazid sich ausscheidet. Das Fukosehydrazid wird bei Mengen von 1/4 g wohl erhalten.

---

[1]) A. Herzfeld, Nitrobenzhydrazidglucose Z. Rüb. **45**, 115—116 (1895).

Immerhin bleibt die Identifizierung bei Gemischen sehr unsicher, weil die Gefahr des gleichzeitigen Ausscheidens des freien Hydrazins besteht.

Die d-Glukuronsäure wurde in dieser Hinsicht nicht untersucht.

Identifizierungswert der o-Nitrobenzhydrazide

Ist ebenso von geringem Wert. Kann überdies nur für Rhamnose dienen, da die anderen nichts oder ein Gemisch von Hydrazid und Hydrazin ausscheiden. Besonders in Gemischen sehr unsicher, daher nicht empfehlenswert.

d-Glukuronsäure wurde darum in dieser Richtung nicht untersucht.

l) para-Tolylhydrazone

Diese Hydrazone sind von mir[1]) erhalten und beschrieben worden und zwar die der l-Arabinose, Fukose, d-Mannose und d-Galaktose. Das Hydrazon der Glukose kristallisiert erst nach 24 St., ist dann aber nicht mehr farblos zu erhalten. Xylose und d-Fruktose scheiden kein Hydrazon aus.

Das „Kahlbaumsche p-Tolylhydrazin, das jetzt auch in 1 g-Fläschchen im Handel zu haben ist, muß einmal aus siedendem W. umkristallisiert werden; es ist dann farblos. Nach einiger Zeit zersetzt es sich. Es darf nicht getrocknet werden, nur abgesogen. Dieses Hydrazon der genannten Monosaccharide wurde wie folgt erhalten:

„Gleiche Teile Monosaccharid und Hydrazin werden mit 20 Teilen 96%-A. im Wasserbade erhitzt, bis alles Monosaccharid gelöst und umgesetzt ist (nach der Lösung noch 1/4 St.). Nach 24 St. wird gesammelt, und einmal oder mehrmals aus 96%-A. umkristallisiert."

Auch in dieser Hinsicht wurde die d-Glukuronsäure untersucht, nachdem das d-Glukuron in 1,5 Teilen W. gelöst war. Nach einigen Stunden begann die Kristallisierung. Nach 24 St. wurde mit 95%-A. gewaschen, und aus 95%-A. umkristallisiert. Grauweiße, mikroskopische, schwach glänzende Blättchen, 1. und 2. Schmelzpunkt 170°.

---

[1]) A. W. van der Haar, Une nouvelle Hydrazone de quelques monosaccharides etc. Rec. **36**, 346—351 (1917).

Schmelzpunkt	Arabinose-p-Tolylhydrazon		160°
„	Rhamnose-p-	„	166°
„	d-Mannose-p-	„	190—191°
„	Fukose-p-	„	169°
„	d-Galaktose-p-	„	168°
„	d-Glukuron-p-	„	170°

Identifizierungswert der p-Tolylhydrazone

Kommen die fünf Monosaccharide und die d-Glukuronsäure einzeln, oder neben Xylose, d-Glukose und d-Fruktose, in nicht zu ungünstigen Verhältnissen vor, so sind die p-Tolylhydrazone sehr geeignet. Für die Mannose am geeignetsten, weil für diese die Identifizierung auch in ungünstigen Verhältnissen gelingt, der größeren Schwerlöslichkeit in A. wegen.

Von Wichtigkeit ist also, daß die d-Glukuronsäure die fünf Monosaccharide durch gleichzeitige Kristallisation des p-Tolylhydrazons stört; bei Umkristallisierung die d-Mannose am wenigsten.

Siehe für Trennungen Kapitel VIII.

m) ortho-Tolylhydrazone

Dieses Hydrazin (Kahlbaum) wird aus wenig heißem W. umkristallisiert, wobei es wünschenswert sein kann, nach Abkühlung, mit einer geringen Menge des zurückgehaltenen Hydrazins zu impfen und mit NaCl zu sättigen. Auch dieses Hydrazin wird der großen Zersetzlichkeit wegen in 1 g-Fläschchen in den Handel gebracht. Das o-Tolylhydrazin habe ich[1]) als ein spezifisches Reagens für die d-Galaktosekonfigurierung gekennzeichnet. Keins der anderen Saccharide scheidet ein Hydrazon aus, auch nicht die d-Glukuronsäure.

d-Galaktose-o-Tolylhydrazon

Eine Lösung von ein Teil Galaktose in ein Teil W. wird mit einem Teil des Hydrazins in 20 Teilen abs. A. während $^1/_2$ Stunde im siedenden Wasserbade erhitzt. Bald kristallisierte ein Hydrazon aus, das nach 24 Std. auf Saugfilter mit A. und Ä. gewaschen, aus 95%-A. umkristallisiert wurde. Die erhaltenen, farblosen, glänzenden, wolligen Nädelchen schmolzen nach Abwaschen mit A., dann W., A. und Ä. bei 176°.

[1]) A. W. van der Haar, o-Tolylhydrazine, un nouveau réactif caractéristique et sensible pour le d-Galactose. Rec. 37, 108—110 (1917); 37, 251—253.

Identifizierungswert des Galaktose-o-Tolylhydrazons

Diese ist groß durch Spezifizität und Empfindlichkeit. 50 mg d-Galaktose in 2 Tr. W. und mit 50 mg des Hydrazins und 2 ccm abs. A. während 1/2 St. erhitzt, gaben 70 mg Hydrazon, das, wie oben umkristallisiert, auf 45 mg zurückging. Schmelzpunkt 176°.

Weil das o-Tolylhydrazin ein spezifisches Reagens auf die d-Galaktosekonfigurierung ist, war zu erwarten, daß die d-Glukuronsäure kein o-Tolylhydrazon abscheidet. Das ist auch in der Tat der Fall.

n) Salicyloylhydrazone

Mit diesem Hydrazin ist von Kahl (a. a. O.) ein Hydrazon der Arabinose als ein feiner, körniger, mikrokristallinischer Niederschlag von prismatisch geformten Kristallen erhalten, Zersetzungspunkt 191°.

Aus d-Glukose wurde das Hydrazon als ein sandiges Pulver mit Entzündungspunkt 198° erhalten.

o) β-Naphthylsulfohydrazone

Kahl (a. a. O.) erhielt aus Arabinose ein farbloses Hydrazon mit dem Zersetzungspunkt 175°.

p) Diphenylmethandimethyldihydrazone

v. Braun[1]) erhielt aus l-Arabinose ein amorphes Hydrazon vom Schmelzpunkt 180°, sowie aus Rhamnose ein amorphes Hydrazon, Schmelzpunkt 163°, aus d-Mannose ein solches mit Schmelzpunkt 179° und aus d-Galaktose mit Schmelzpunkt 185°.

q) Diphenylmethandihydrazone

Borsche und Kienitz[2]) erhielten aus d-Glukose ein Hydrazon als dunkelgelbes Kristallpulver. Schmelzpunkt 122—123°.

r) Diaethyldihydrazone

v. Braun (a. a. O.) erhielt aus d-Mannose ein Hydrazon mit Schmelzpunkt 183°.

---

[1]) J. v. Braun, Zur Kenntnis der Dihydrazine. Ber. 43, 1495—1505 (1910).
J. v. Braun, Verhalten der Zuckerarten gegenüber dem Diphenylmethandimethyldihydrazin Ber. 50, 42—43 (1917).
I. J. Rinkes, Over Brauns reagens. Ch. W. 14, 895—896 (1917).

[2]) W. Borsche und G. A. Kienitz, Chinolin- und Indolderivate des 4,4'-diamino-diphenylmethan. Ber. 43, 2333—2337 (1910).

s) Benzoyl-dihydromethylketolhydrazone

v. Braun[1]) benutzte es als ein neues Reagens auf d-Galaktose. Das HCl-Salz + Na-Azetat usw. gab das Hydrazon, Schmelzpunkt 181°. In A., auch in der Wärme kaum löslich, sehr leicht in Pyridin. d-Glukose, d-Fruktose, d-Mannose, l-Arabinose und Xylose geben keine Abscheidung.

t) p-Dinitrodibenzylhydrazone

Alberda v. Ekenstein und Blanksma (a. a. O.) erhielten aus Rhamnose ein Hydrazon mit Schmelzpunkt 142°, aus d-Glukose eins mit Schmelzpunkt 142°, eins aus d-Galaktose mit Schmelzpunkt 153°.

u) Cyclo-hexylhydrazone

Kishner[2]) erhielt aus Rhamnose ein Hydrazon mit Schmelzpunkt 123—124° und $\alpha_D = + 7{,}37°$.

v) Formalmethylen-Monosaccharide[3])

Wenn ein geschmolzenes Gemisch aus Xylose und Trioxymethylen mit 50%iger Schwefelsäure oder mit 75%iger Phosphorsäure behandelt wird, so entsteht nach v. E. eine für Xylose typische Verbindung. Die klare Lösung in Schwefelsäure wird mit Stückchen Eis auf niedriger Temperatur gehalten. Die Formalverbindung wird mit Benzol oder Chloroform ausgeschüttelt, Schmelzpunkt der Kristalle 56—57°. Kristallisiert gut aus Benzol oder Petroläther, sublimiert leicht. α_D in Methylalkohol $= + 25{,}7°$.

Die analoge Rhamnoseverbindung schmilzt bei 76°. $\alpha_D = - 18°$ (c = 0,4 in W.).

Die Dibenzalverbindung von Rhamnose schmilzt bei 128°. α_D in Methylalkohol $= + 56°$. Aus d-Glukose konnte die Monoformalverbindung nicht rein erhalten werden, Schmelzpunkt 140—150°.

Die Monoformalverbindung der d-Mannose schmolz bei 188°. $\alpha_D = + 53°$ (c = 2).

Die analoge d-Galaktoseverbindung war undeutlich kristallinisch und hatte Schmelzpunkt 203°. $\alpha_D = + 124{,}8°$ (c = 2).

---

[1]) J. v. Braun, Benzoyl-dihydromethylketolhydrazin, ein neues Reagens auf Galactose. Ber. 49, 1266—1268 (1916).

[2]) N. Kishner, Über einige Hydrazone des Cyclohexyl-hydrazins, durch Ch. Centralbl. I, 1110—1111 (1915).

[3]) W. Alb. v. Ekenstein, Acad. Amsterdam 658 (1903).

Die analoge d-Fruktoseverbindung, aus Petroläther umkristallisiert, schmilzt bei 92°. Leicht löslich in Chloroform, Benzol, Äthylalkohol, Ä., Essigsäure und in W. Sublimiert leicht. $\alpha_D = -34{,}9^0$ (c = 2).

Obenstehendes alles nach Alb. v. Ekenstein.

w) β-Naphtholbenzylamine

Betti[1]) führte es ein zum Unterschied von Aldosen von den Ketosen.

Betti ließ eine alkoholische β-Naphtholbenzylaminlösung auf eine Lösung von 1,8 g d-Mannose in schwach verdünntem A. einwirken. Nach 12 St. wurde die Kristallmasse gesammelt, mit Benzin gewaschen und aus siedendem A. umkristallisiert. Farblose Nädelchen, Schmelzpunkt 207—208°. Aus Rhamnose wurde eine körnige, farblose, kristallinische Verbindung, Schmelzpunkt 192°, erhalten.

Aus d-Glukose erhielt B. ebenso die analoge Verbindung mit Schmelzpunkt 192°, durch Einwirkung von 1,8 g d-Glukose in möglichst wenig W. und mit A. auf 150 ccm gebracht, während 2 Tagen auf 2,5 g der Base. Aus A. umkristallisiert, sind es seidenglänzende Nädelchen.

In derselben Weise wurde die analoge d-Galaktoseverbindung als kleine, glänzende Prismen, Schmelzpunkt 206°, erhalten.

Aus d-Fruktose konnte B. die Verbindung nicht erhalten.

B. Die Bildungsweisen, Schmelzpunkte, Eigenschaften und der Identifizierungswert der Osazone der Monosaccharide und der d-Glukuronsäure.

Bemerkungen:

Den unten zu erwähnenden Resultaten etwas vorauslaufend, können wir den Schluß ziehen, daß der Identifizierungswert der verschiedenen Osazone, als Ganzes zusammengefaßt, viel geringer ist, als der der Hydrazone. Diese geringere Wertschätzung wird verursacht durch das Auftreten von Nebenreaktionen, also von entstehenden Nebenprodukten, welche oft nicht ganz, oder nur mit großem Müheaufwand entfernt werden können. Das Eintreten der Nebenreaktionen wird wieder von der höheren Temperatur, bei welcher die Osazone entstehen, und durch welche die reagieren-

[1]) M. Betti, Gaz. ital. 42, 288—294 (1912).

den Moleküle kräftig angegriffen werden, verursacht. Das Entfernen der Nebenprodukte ist besonders schwer ausführbar bei jenen Osazonen, welche in starkem Alkohol und in Azeton gut löslich sind.

Die Schmelzpunkte der Osazone sind etwas weniger leicht bestimmbar wie die der Hydrazone und hierfür ist etwas mehr Übung erforderlich.

Mehr noch wie bei den Hydrazonen ist es erforderlich, keine Mühe zu sparen, um zu ermitteln, ob ein erhaltenes Osazon rein ist. Es kommt ja vor, daß bei wiederholtem Umkristallisieren aus einem Lösungsmittel konstante Schmelzpunkte erhalten werden, während doch eine Verunreinigung hartnäckig anhängt, die offenbar in konstantem Mischverhältnisse auftritt. Es ist alsdann nötig, mehrere Kristallisierflüssigkeiten anzuwenden, z. B. Pyridin und Wasser.

Als ein Reinheitskriterium darf das Äußere gelten; die Osazone sollen zitronengelb (lichtgelb) sein; einige sind goldgelb (außer den Nitroosazonen, welche etwas dunkler, rötlich gefärbt sind). Das Osazon soll, in verschiedenen Lösungsmitteln gelöst, dieselbe lichtgelbe Farbe zeigen, wie das Osazon selbst. Es kommt ja vor, daß ein Osazon von ziemlich lichtgelber Farbe ist und doch z. B. beim Übergießen mit Alkohol diesen gelbbraun färbt. Es ist selbstverständlich, daß in diesem Falle das Osazon nicht rein war, und einen unscharfen, zu niedrigen Schmelzpunkt zeigen würde. Wir brauchen uns aber durch Obenstehendes nicht abschrecken zu lassen; in mehreren Fällen sind gute Resultate zu erhalten, welche der Mühe, die man aufzuwenden hat, lohnen.

a) Phenylosazone

Das salzsaure Phenylhydrazin[1]) soll farblos sein. Ist das nicht der Fall, so soll es aus siedendem, starkem Alkohol umkristallisiert werden. In Fällen, in welchen das Osazon aus 70%igem oder stärkerem A., der großen Löslichkeit wegen, nicht umkristallisiert werden kann, kann der Schmelzpunkt unsicher sein.

---

[1]) Böeseken benutzt eine Lösung, welche entsteht, wenn gewaschenes SO_2 in ein Gemisch von Phenylhydrazin und zehnfacher Menge Wasser geleitet wird.

1. l-Arabinose-Phenylosazon

Lit.: Kiliani[1]) erhielt nach E. Fischers Arbeitsweise für d-Glukose[2]), ein Osazon mit Schmpt. 158°.

Scheibler[3]) erhielt ein Osazon mit Schmpt. 157—158°.

E. Fischer[4]) gibt an: „gegen 160°".

Darstellung und Schmelzpunkt:

¼ g l-Arabinose in 10 ccm W., wurde mit ½ g salzsaurem Phenylhydrazin und ¾ g Natriumazetat nach E. Fischer (a. a. O.) während einer Stunde im Wasserbade erhitzt. Nach 24 Stunden wurde das Osazon auf Saugfilter mit W. gewaschen. Nach Lösung in 3 ccm siedendem 90%-A. wurde mit 6 ccm W. verdünnt (also aus 30%-A. umkristallisiert). Nach einigen Stunden wurde die Umkristallisierung wiederholt. Beim fortgesetzten Umkristallisieren aus 30%-A. kann das Osazon nicht völlig rein erhalten werden. Es wurde daher in Azeton gelöst, und der Lösung W. bis zur Trübung zugegeben. Nach einigen Stunden wurde das Osazon abgesaugt und wieder aus 30%-A. umkristallisiert. Es wurde das Osazon in 3 ccm heißem 70%-A. gelöst und 4 ccm W. hinzugegeben. Nach abermaligem Sammeln und Umkristallisierung aus heißem 30%-A. wurden grünlich-gelbe, warzenförmige, aus Nädelchen bestehende Kristallagregate erhalten. Erster Schmelzpunkt 165°, zweiter 165—166°. Gut löslich in Azeton.

Also Schmelzpunkt 165—166°.

2. Xylose-Phenylosazon

Lit.: Hébert[5]) erhielt das Osazon mit Schmelzpunkt 152—155°.

Bauer[6]) erhielt ein Osazon mit Schmelzpunkt 156°, betrachtete das aber als Arabinosazon, nicht als Xylosazon.

Koch[7]) erhielt ein Osazon mit Schmelzpunkt 160°, ebenso Gans, Stone und Tollens[8]).

---

[1]) H. Kiliani, Über die Zusammensetzung u. Konstitution der Arabinosekarbonsäure, bezw. der Arabinose. Ber. **20**, 339—346 (1887).

[2]) E. Fischer, Verbind. d. Phenylhydrazins mit den Zuckerarten I. Ber. **17**, 579.

[3]) C. Scheibler, Üb. d. Nicht-Identität d. Arab. u. d. Laktose. Ber. **17**, 1731—1732 (1884).

[4]) E. Fischer, Ber. **23**, 2114 (1890).

[5]) Hébert, C. R. **110**, 969.

[6]) R. W. Bauer, Üb. eine aus Pflaumenpektin entstehende Zuckerart. J. pr. Ch. **43**, 112 (1891), **34**, 46—50 (1886).

[7]) F. Koch, Exper. Prüfung d. Holzgummis usw. Pharm. Zeitschr. f. Rußland, durch Ber. **20**, 145 (1887) (Referate).

[8]) R. Gans, W. E. Stone und B. Tollens, Über Zuckersäurebildung usw. Ber. **21**, 2148—2152 (1888).

Allen und Tollens[1]) erhielten das Osazon aus essigsaurer Lösung, mit Schmelzpunkt 160—161°.

Bertrand[2]) erhielt am Bloc. Maquenne einen Schmelzpunkt 166°.

Eigenschaften:

Nach Neuberg (a. a. O.) ist α_D in Pyridin-Alkohol —0° 51′. Ist in Azeton gut löslich. In alkoholischer Lösung stark links drehend (Fischer). Arabinosazon dreht nicht.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Genau in der bei Arabinose beschriebenen Weise verfahren, wurden sehr feine, zitronengelbe Nädelchen erhalten. Erster Schmelzpunkt 162°, zweiter 163°.

Also Schmelzpunkt 163°.

3. Rhamnose-Phenylosazon

Lit.: E. Fischer und Tafel[3]) erhielten in der bei d-Glukose beschriebenen Weise ein Osazon, das aus A. durch W. niedergeschlagen und bei 100° getrocknet, bei schnellem Erhitzen gegen 180° schmolz.

Will[4]) fand ebenso 180°.

Rayman[5]) fand 171°, gibt aber an, daß das Osazon nicht ganz rein war.

Eigenschaften:

In A. und in Azeton gut löslich. In heißem W. und in Ä. sehr schwer, in Benzol schwer löslich. Aus Benzol kristallisieren sternförmig gruppierte Nädelchen (Fischer).

α_D (in Pyridin + Alkohol) = + 1° 24′ (Neuberg a. a. O.)

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, wurde das Osazon in kleinen, etwas goldgelben, sternförmig gruppierten Nädelchen erhalten. Erster Schmelzpunkt 181—182°, zweiter 182°.

Also Schmelzpunkt 182°.

---

[1]) E. W. Allen und B. Tollens, Über Holzzucker usw. Lieb. Ann. **260**, 289—313 (1890) und Diss. Göttingen 1890.

[2]) Bertrand, Le Xylose S. 28.

[3]) E. Fischer und J. Tafel, Oxydation der mehrwertigen Alkohole. Ber. **20**, 1088 (1887).

[4]) W. Will, Üb. d. Zucker des Hesperidins und Naringins. Ber. **20**, 1186—1190 (1887).

[5]) B. Rayman, Sur l'isodulcite. Bull. Ser. II, **47**, 668—677 (1887).

4. Fukose-Phenylosazon

Lit.: Günther und Tollens (a. a. O.) fanden einen Schmelzpunkt 159°.

Müther (a. a. O.) erhielt durch Erhitzung von 2 g Fukose, 4 g salzsaurem Phenylhydrazin, 6 g Natriumazetat und 40 g W. nicht das Osazon, wie er erwartete, sondern das Hydrazon.

Mayer[1]) erhitzte 1 g Fukose mit 2 g salzsaurem Phenylhydrazin und 40 g W. während $1^1/_2$ St. Es wurde ein braunes Osazon mit Schmelzpunkt 175° erhalten, der nach wiederholtem Umkristallisieren aus 96% A. auf 177,5° stieg.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Weil mit 100 mg Fukose kein brauchbares Resultat erhalten wurde, und ich keine größere Menge Fukose aufopfern konnte, wurde der Mayersche Schmelzpunkt 177,5° angenommen.

5. d-Glukose-Phenylosazon

Lit.: E. Fischer[2]) erhielt das Osazon aus 1 Tl. Glukose, 2 Tln. HCl-Phenylhydrazin, 3 Tln. Natriumazetat und 20 Tln. W. nach Erhitzung während $1^1/_2$ Stunden. Schmelzpunkt 204—205° (gegen 205° (unkorr.), 208° (korr.)[3])).

Tiemann und Kees[4]) geben 206° an.

Tollens[5]) gibt 208° an.

Der von Tutin[6]) gegebene Schmelzpunkt 217°, und der von Le Goff[7]) gegebenen 230°, wurde schon von E. Fischer (a. a. O. Ber. 1908) widerlegt.

Eigenschaften:

In W. fast unlöslich (nicht das unreine); ziemlich leicht in heißem 60% A. löslich; unlöslich in kaltem Azeton, wenig löslich in abs. A. (Fischer). Drehung in 4 ccm Pyridin + 6 ccm abs. A. = —1° 30′ (c = 2) (C. Neuberg).

0,1 g in 12 ccm Eisessig, nach Abkühlung sofort in D-Licht wahrgenommen = 0,85°; bei Auerlicht = —0,65° (Fischer, Ber. 27, 2488); Ost (Ber. 28, 1503) fand α_D in abs. A. = —50°. (c = 0,2).

---

1) W. Mayer und B. Tollens, Über das Fukosephenylosazon. Ber. **38**, 3021 (1905).

2) E. Fischer, Verbind. d. Phenylhydrazins mit den Zuckerarten I. Ber. **17**, 579 (1884).

3) E. Fischer, Schmelzpunkte des Phenylhydrazins und einiger Osazone. Ber. **41**, 73 (1908).

4) F. Tiemann und A. Kees, Über einige Reaktionen der Glucoside Helicin und Glucovanillin. Ber. **18**, 1657—1665 (1885).

5) B. Tollens, Z. Rüb. **39**, 917.

6) F. Tutin, C. R. **127**, 819 (1898).

7) Le Goff, Proc. Soc. **23**, 250 (1907).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, wurde ein Osazon erhalten, das der ziemlich großen Reinheit wegen in 8 ccm heißem 90%-A. noch nicht ganz löslich war. Es wurden 16 ccm W. hinzugegeben, nach einigen Stunden das Osazon gesammelt, und mit 30%-A. und mit Azeton gewaschen. Es wurde aus 70%-A. umkristallisiert, es war ein lichtgelbes, in losen oder zu Garben vereinigten Nädelchen kristallisierendes Osazon. Erster und zweiter Schmelzpunkt 210°.

6. d-Mannose-Phenylosazon

Ist mit dem der d-Glukose identisch.

7. d-Galaktose-Phenylosazon.

Lit.: E. Fischer[1]) erhielt das Osazon in der bei d-Glukose beschriebenen Weise, mit Schmelzpunkt 182°. Später fand E. F.[2]) bei schneller Bestimmung 193—194°. Noch später[3]) 186° (korr. 188°) (1° Erhöhung in 2—3 Sek.). Bei sehr reiner Substanz wurde 196—197° gefunden[4]).

Eigenschaften:

In heißem A. und heißem Azeton ziemlich leicht löslich, in Ä., Benzol, Chloroform und kaltem W. fast unlöslich. In heißem W. wenig, in heißem 60%-A. leicht löslich (E. Fischer).

α_D in Eisessig = 0 (c = 1—4). Bei höherem Prozentgehalt negativ (E. Fischer).

α_D in Pyridin-Alkohol (C. Neuberg) = + 0° 48'.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, wurde ein Osazon erhalten, das mit 30%-A. und mit Azeton gewaschen wurde. Die Ausbeute war nicht groß. Ein goldgelbes Osazon, in warzenförmigen, aus Nädelchen bestehenden Agregaten kristallisierend. Der Schmelzpunkt ist nicht ganz konstant, manchmal 188°, auch 182—183°.

Also Schmelzpunkt 184° angenommen.

---

[1]) E. Fischer, Ber. **17**, 579 (1884).
[2]) E. Fischer, Ber. **20**, 821 (1887).
[3]) E. Fischer, Ber. **41**, 73 (1908).
[4]) E. Fischer und J. Tafel, Ber. **20**, 3390 (1887).

8. d-Fruktose-Phenylosazon

Ist mit dem der d-Glukose identisch.

9. d-Glukuron-Phenylosazon

Lit.: Neuberg und Neimann (a. a. O.) erhielten ein Osazon, durch Einwirkung von 3,5 g Lakton in 100 ccm W. auf 6,6 g Phenylhydrazin in der berechneten Menge 30%iger Essigsäure, im Brutschrank unter 40°. Nach einigen Stunden entstanden Kristalle; die Einwirkung wurde während 3 Tagen fortgesetzt. Die Nädelchen wurden mit kaltem W. gewaschen und aus 50%-A. umkristallisiert. Lange, verfilzte Nädelchen (Schmelzpunkt 200—202°), welche dem Glukosazon sehr ähneln, unterscheiden sich von diesem durch die leichte Löslichkeit in Azeton.

Eigenschaften:

Sehr leicht in Pyridin, wenig in siedendem Benzol löslich, in Ä. praktisch unlöslich (N. und N.).

Darstellung:

Weil das Osazon der d-Glukuronsäure sich als Identifizierungsmittel wenig bewährt hat, wurde nur ermittelt, ob das Osazon bei der Monosaccharidosazonbildung, besonders bei der Glukosazonbildung störend wirkt. Wie bei Arabinose (und Glukose) beschrieben, behandelt, wird ein braungelbes Osazon erhalten. Insoweit stört es die Monosaccharide. Für Glukose, Fruktose und Mannose kann die Störung umgangen werden, dadurch, daß das Glukuron-Osazon in Azeton löslich ist, wenn auch möglicherweise ein kleiner Teil desselben zurückbleibt. Es ist daher fraglich, ob das Glukuron-Osazon einheitlicher Natur ist. Die Reinigung des Glukuron-Osazons selbst ist unsicher, weil es in starkem A. und in Azeton zu leicht löslich ist.

Identifizierungswert der Phenylosazone:

Dieser ist für d-Glukose, also auch für d-Mannose und d-Fruktose am sichersten, weil dieses Osazon am leichtesten rein zu erhalten ist. Dann folgen Xylose, Arabinose, Rhamnose und Fukose, während Galaktose der geringen Ausbeute und des unsicheren Schmelzpunktes wegen am wenigsten sicher zu identifizieren ist.

Für d-Glukuron ist sie wohl als ungeeignet zu betrachten.

Glukose + Fruktose + Mannose und zum größten Teile Galaktose sind also von Arabinose + Xylose + Rhamnose + Fukose + d-Glukuron durch Azeton zu trennen. Für Trennungen siehe weiter Kapitel VIII.

b) p-Bromphenylosazone

Für die Darstellung dieser Osazone tut man am besten, von dem salzsauren p-Bromphenylhydrazin + Natriumazetat statt von dem freien Hydrazin + Essigsäure auszugehen. Das salzsaure Hydrazin war das Kahlbaumsche.

1. l-Arabinose-p-Bromphenylosazon

Lit.: C. Neuberg[1]) erhielt dieses Osazon durch Erhitzung der beiden Komponenten in essigsaurer Lösung während 2 Stunden im Wasserbade. Das entstandene ölige Produkt wurde fest und kristallinisch. Nach Umkristallisierung aus verdünntem A. entstanden feine, lichtgelbe Nädelchen, Sinterpunkt 185°, Schmelzpunkt 196—200°.

Morrell und Crofts[2]) erhielten aus leicht oxydierter Arabinose runde Agregate aus Benzol kristallisiert, mit Schmelzpunkt 171°.

Rewald[3]) fand den Schmelzpunkt 180°.

Eigenschaften:

In reinem Zustande feine, gelbe Nädelchen, besonders aus verdünntem Pyridin, gut ausgebildete, sechseckige Täfelchen. Unlöslich in Ligroin, schwer in kaltem W. und in heißem Chloroform, leicht in heißem W., A., Methylalkohol, Azeton, Ä., Äthylazetat, Benzol, Toluol und Pyridin löslich. Drehung 0,2 g in 4 ccm Pyridin + 6 ccm abs. A. + 0° 28′ (Neuberg). (Das Pyridin soll durch Destillation über festem Kali gereinigt werden, damit es inaktiv werde. Bei der Drehungsbestimmung ist es ratsam, Asbestringe im Rohr zu benutzen) (Neuberg.) Rewald fand + 0° 50′.

Nach Morrell und Crofts (a. a. O.) sehr schwer in Benzol löslich.

Darstellung und Schmelzpunkt:

1/4 g Arabinose, 3/4 g salzsaures p-Br-Phenylhydrazin, 1 g Natriumazetat und 10 ccm W. wurden während 2 Stunden im Wasserbade erhitzt. Nach Abkühlung wurde das ölige Osazon fest. Es wurde auf Saugfilter gesammelt und mit W. gewaschen. Der Lösung in 5 ccm 90%-A. wurden 5 ccm Wasser hinzugefügt. Das abgeschiedene Osazon wurde in 5 ccm 70%-A. gelöst und 2 ccm W. hinzugefügt. Ein braungelbes Osazon mit unscharfem Schmelzpunkt 173° wurde erhalten (also der Morrell- und Croftssche).

---

[1]) C. Neuberg, Üb. d. Reinigung der Osazone u. zur Bestimmung ihres opt. Drehungsvermögens. Ber. **32**, 3384—3388 (1899).

[2]) R. S. Morrell und J. M. Crofts, Action of Hydrogen Peroxide on carbohydrates in the presence of ferrous Sulphate. J. Soc. **83**, 1284—1292 (1904).

[3]) B. Rewald, Ber. **42**, 3135 (1909).

Der Lösung dieses Osazons in 5 ccm Pyridin wurden 5 ccm W. hinzugefügt. Bald entstanden sehr feine, mikroskopische, zitronengelbe Nädelchen. Nach zweimaliger Wiederholung, wobei jedesmal vor der Trocknung das anhaftende Pyridin mit W. fortgeschafft wurde, war der Schmelzpunkt 185°, kein Aufbrausen fand statt, auch nicht bei 200°.

Also Schmelzpunkt 185°.

2. Xylose-p-Bromphenylosazon

Lit.: C. Neuberg (a. a. O.) erhielt in der bei Arabinose beschriebenen Weise ein Osazon, das aus verdünntem A. umkristallisiert, bei 208° schmolz. Es waren gelbe Nadeln mit α_D in Pyridin-Alkohol ungefähr 0.

Eigenschaften:

Löslichkeit wie bei Arabinose, jedoch ist das p-Bromphenylosazon der Xylose in Ä. und in Azeton unlöslich, nach Neuberg. Rewald (a. a. O.) fand sie inaktiv, Schmelzpunkt 204°.

Darstellung:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, scheidet sich bald ein öliges Produkt aus, das fest wird. Nach 24 St. gesammelt, und in A. gelöst, wurden es von gleichem Volumen W. geleeartig niedergeschlagen. Umkristallisieren aus Pyridin und W. gelang nicht recht. Ein Kriterium der Reinheit fehlte, und wurde deshalb der Schmelzpunkt nicht bestimmt.

3. Rhamnose-p-Bromphenylosazon

Lit.: Morrell und Crofts (a. a. O.) erhielten es aus Rhamnoson, in gelben Nädelchen, mit Schmelzpunkt 215°.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, entsteht ein gelbes Osazon, das sehr leicht gereinigt werden kann, dadurch, daß es sehr schwer in heißem 90% A. löslich ist. In 10 ccm siedendem A. war noch nicht alles gelöst. Ohne Filtration wurde nach 24 St. gesammelt, mit 90% A. gewaschen. Es ist ein zitronengelbes Osazon. Schmelzpunkt 218°. Durch Umkristallisierung aus Pyridin und W. erniedrigte sich der Schmelzpunkt auf 216°, also soll diese Manupulation nicht ausgeführt werden.

Also Schmelzpunkt 218°.

Votoček[1]) gab einen Schmelzpunkt 223—225°, nach Abwaschung mit Azeton.

4. Fukose-p-Bromphenylosazon.

Dieses Osazon war noch nicht dargestellt. 100 mg Fukose, in der Weise bei Arabinose beschrieben, behandelt, gab ein Osazon, das nach Abwaschung mit W., in heißem A. gelöst und mit W., bis eine Opalescenz eintrat, gemischt, nach 24 Stunden wieder gelb, kristallinisch niederschlug, mit Schmelzpunkt 192°, nach Abwaschung mit 70%-A. Lösen in 90%-A. und mit W. wieder auf 70% gebracht, gab ein Osazon mit Schmelzpunkt 200—202°. Umkristallisierung aus Pyridin + W. gab eine starke Schmelzpunkterniedrigung, soll also nicht ausgeführt werden. Es kommt vor, daß hartnäckig bleibende Hydrazonbildung, neben Osazonbildung stattfindet. In diesem Falle wird noch etwas des salzsauren Salzes von Hydrazin und Na-Azetat hinzugegeben und weiter erhitzt.

Also Schmelzpunkt 200—202°.

5. d-Glukose-p-Bromphenylosazon

Lit.: Neuberg (a. a. O.) erhielt dieses Osazon in gelben Nadeln, Schmelzpunkt 222°.

Eigenschaften:

Drehung (0,2 g in 4 ccm Pyridin + 6 ccm abs. A.) = — 0° 31′ (Neuberg).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie bei Arabinose beschrieben, behandelt, entsteht ein Osazon, das nach 24 St. abgesogen wurde. Wie das Rhamnose-p-Br-Phenylosazon, ist auch dieses Osazon durch schwere Löslichkeit in A. gekennzeichnet. Aus siedendem 90%-A. umkristallisiert, sind es feine, zitronengelbe Nädelchen, Schmelzpunkt 215—216°. Pyridin + Wasser-Umkristallisation führte wieder zu einem niedrigeren Schmelzpunkt. Der Neubergsche Schmelzpunkt wurde also nicht erreicht nach der hier befolgten Methode.

Also Schmelzpunkt 215—216°.

6. d-Mannose-p-Bromphenylosazon

Dieses Osazon war noch nicht dargestellt und es gelang mir auch nicht, es rein und hydrazonfrei zu erhalten. Anfangs wurde

---

[1]) E. Votoček, Ber. 43, 481 (1910).

nur das Hydrazon mit Schmelzpunkt 208° erhalten, nachher stets Hydrazon + Osazon.

7. d-Galaktose-p-Bromphenylosazon

Darstellung und Schmelzpunkt:

In der Weise, bei Arabinose beschrieben, behandelt, konnte zwar ein Osazon erhalten werden, das, aus A. durch W. niedergeschlagen, braungelbe, sehr feine Nädelchen darstellte und bei 182—183° schmolz. Nach Lösung in Pyridin und Präzipitierung mittels W. war die Farbe goldgelb und der Schmelzpunkt 184°.

Die Sicherheit, hier ein reines Osazon unter den Händen zu haben, ist nicht groß, weil auch hier das Hydrazon dem Übergang in Osazon hartnäckig Widerstand bietet.

8. d-Fruktose-p-Bromphenylosazon

Dieses Osazon war noch nicht dargestellt. Es stellte sich heraus, daß es sich ganz wie das d-Glukose-p-Bromphenylosazon verhält und einen Schmelzpunkt 214° besitzt, dürfte wohl als identisch mit jenem angesehen werden.

9. d-Glukuron-p-Bromphenylosazon

Lit.: C. Neuberg[1]) erhitzte 2 g Lakton in 250 ccm W. mit einer zuvor zum Sieden erhitzten Lösung von 5 g reinem, salzsauren p-Br.-Phenylhydrazin und 6 g Natriumazetat, während 5—10 Minuten. Nach Abkühlung wurden hellgelbe Nadeln gesammelt. Jedesmal mit dem Filtrate wurde 4—5 mal in derselben Weise verfahren. So wurde in 2—3 St. alles Osazon gewonnen. Es wurde mit heißem W. und mit abs. A. gewaschen. Schmelzpunkt war 200—216°. Nach wiederholtem Umkristallisieren aus 60%-A. war der Schmelzpunkt 236°.

Goldschmiedt und Zerner[2]) erklären das p-Bromphenylosazon für ungeeignet und empfehlen das p-Bromphenylosazon des Baryumglukuronats (siehe dort). Ebenso äußern sich Asahina und Momoya[3]). Nach Jolles[4]) dagegen geht die Neubergsche p-Bromphenylosazonbildung gut von statten, wenn das zweimal umkristallisierte Kahlbaumsche salzsaure p-Bromphenylhydrazin benutzt wird.

Goldschmiedt und Zerner[5]) bestreiten das.

---

[1]) C. Neuberg, Über die Verbindungen des Glucurons mit p-Bromphenylhydrazin. Ber. **32**, 2395—2398 (1899).

[2]) G. Goldschmiedt und E. Zerner, Über die Einwirkung von p-Bromphenylhydrazin auf Glucuron. M. **33**, 1217—1231 (1912).

[3]) Y. Asahina und M. Momoya, Über das Saponin von Styrax japonica. Arch. **252**, 56—59 (1914).

[4]) A. Jolles, Bemerk. z. Darst. der p-Bromhydrazinverbind. d. Glucuronsäure n. C. Neuberg. Ber. **46**, 113—115 (1913).

[5]) G. Goldschmiedt und E. Zerner. Ber. **46**, 113 – 115 (1913).

Eigenschaften:

Wenig in heißem W., Benzol, Ä., Äthylazetat, abs. A. und Amylalkohol löslich. Unlöslich in Chloroform, ziemlich leicht in heißem Eisessig. In A. und Pyridin stark linksdrehend, nämlich $\alpha_D = -369^0$ (Neuberg).

Darstellung und Schmelzpunkt:

200 mg d-Glukuron in 10 ccm W. wurden mit 1/2 g umkristallisiertem[1]), weißem, salzsaurem p-Br-phenylhydrazin und 750 mg Natriumazetat während einiger Minuten im Wasserbade erhitzt. Nach Abfiltrierung einer braunen Substanz wurde während 3/4 St. weiter erhitzt. Das wird noch einige Male wiederholt. Das gesammelte braune Osazon wird mit W., heißem abs. A. und Ä. gewaschen. Es resultierte ein lichtgelbes Osazon, vom Schmelzpunkt 205—210°. Der erste Neubergsche Schmelzpunkt (200 bis 216°) wurde also erreicht. Es gelang mir aber in keinerlei Weise den zweiten von ihm gegebenen, 236°, zu erreichen. Weder nach Auskochung mit 95%-A., noch aus 60%-A. konnte eine Schmelzpunkterhöhung konstatiert werden. Der Teil, der sich nicht löste, noch der Teil, der aus der Lösung auskristallisierte, hatte einen höheren Schmelzpunkt wie 205—208°, auch nicht nach scharfem Trocknen, bei schneller Schmelzpunktbestimmung.

Identifizierungswert der p-Bromphenylosazone

Nur für Rhamnose, Glukose und Fruktose geeignet, weil sie hydrazonfrei erhalten werden und durch die Schwerlöslichkeit leicht gereinigt werden können.

Für Mannose, Galaktose und Fukose wenig Sicherheit und daher unbrauchbar.

Xylose schlägt nicht nieder.

Für d-Glukuron ziemlich gut, obschon nur ein unscharfer Schmelzpunkt 205—208° erreicht wurde. Von Wichtigkeit ist, daß es also Rhamnose, Glukose und Fruktose stört.

Für Trennungen siehe Kapitel VIII.

Neuberg (Ber. **33**, 3323 (1900)) schreibt, daß die p-Bromphenylosazone der Saccharide in A. löslich sind. Das trifft aber nur für Xylose zu, wie wir oben gesehen haben, für Rhamnose, Glukose, Fruktose nicht.

---

[1]) In A. gelöst und mit Ä. niedergeschlagen.

c) p-Bromphenylosazon-d-Glukuronsaures Bayrum

Siehe bei b) (p-Bromphenylosazone).

Nach der Goldschmiedt und Zernerschen Vorschrift (a. a. O.) wurden 250 mg d-Glukuron in 10 ccm Wasser mit Barytwasser auf Lackmuspapier neutralisiert (Neutralisierung findet nach G. und Z. nicht augenblicklich statt), und mit 1 g umkristallisiertem, farblosem, salzsaurem p-Bromphenylhydrazin und 1,5 g Baryumazetat in 10 ccm W. während 2 Minuten im Wasserbade erhitzt. Nach Filtrierung wurden 0,75 ccm Eisessig zugegeben und während 1/2 Stunde erhitzt. Nach Sammlung des Osazons wurde noch dreimal in dieser Weise verfahren.

Das Total-Osazon wurde auf Saugfilter gesammelt und mit W., heißem A. und Ä. gewaschen. Es waren lichtgelbe, mikroskopische Nädelchen, Schmelzpunkt 208—210°. In keinerlei Weise konnte der G. und Z.sche Schmelzpunkt 215—216° erreicht werden. Weder aus 95%-A., noch aus 60%-A. wurde der Schmelzpunkt erhöht. Der Teil, der sich löste, und der Teil, der ungelöst geblieben war, schmolzen bei 208—210° (mehrere Grade vorher Sinterung).

Identifizierungswert des p-Bromphenylosazons des d-glukuronsauren Baryums

Ungeachtet des Nichterreichens des Schmelzpunktes 215—216° (gef. ungefähr 205°) ist das Osazon für d-Glukuron wohl geeignet. Was die Störung, die sie auf die Monosaccharide ausübt, anbetrifft, so ist das bei den p-Bromphenylosazonen Geschriebene hier genau geltend, weil die dort genannten Verbindungen ebenso neben der Baryumverbindung anwesend sein können und sich ebenso durch Schwerlöslichkeit in A. auszeichnen. Vielleicht können sie durch große Mengen siedenden Alkohol entfernt werden, wobei die d-Glukuronverbindung zurückbleibt, doch bleibt das sehr unsicher und fraglich. Überdies unterscheiden sich die Schmelzpunkte wenig, und nach dem G. und Z.schen gar nicht.

d) α-Methylphenylosazone

Lit.: Aus l-Arabinose, Xylose, Rhamnose, Fukose und d-Galaktose sind keine Methylphenylosazone erhalten worden.

R. und O. Adler[1]) erhielten dieses Osazon aus d-Glukose, indem sie ein Teil

---

[1]) R. und O. Adler, Über einige Reaktionen der Kohlenhydrate. Pflüg. Archiv 106, 323—328, durch Chem. Centralblatt I, 672 (1905).

Glukose auf dem Hydrazin in Essigsäure und 20 Teilen W. bei 37° einwirken ließen. Aus verdünntem Pyridin wurden gelbbraune Nädelchen erhalten, Schmelzpunkt 140—148°.

Neuberg (a. a. O., Ber. 1902) erhielt aus d-Fruktose dieses Osazon durch Einwirkung von 1,8 g d-Fruktose in 10 ccm W. auf 4 g Hydrazin und A. zur klaren Lösung und 4 ccm 50%-Essigsäure während 5—10 Min. im Wasserbade zu erhitzen. Das Osazon wurde aus 10%-A. umkristallisiert.

Eigenschaften:

Löslich in heißem A., Azeton, Äthylazetat, Chloroform. Sehr leicht löslich in Pyridin, schwer in Benzol, unlöslich in Ligroin. Aus einem Chloroform-Petroläthergemisch entstehen lichtgelbe Nädelchen, Schmelzpunkt 158—160°. Aus 10%-A. Schmelzpunkt 153°. α_D in Pyridin-Alkohol + 1° 4′ (Neuberg).

Ofner[1]) behauptet, die Glukose reagiere bei 37° wie die Fruktose.

Ich[2]) fand das nicht bestätigt. Zum zweiten Male fand ich die Neubergsche Behauptung, das α-Methylphenylhydrazin sei bei der Osazonbildung ein Ketosereagens, bestätigt.

Darstellung und Schmelzpunkt:

Die Methylphenylosazone haben für die Aldosen keinen Wert. Neuberg (a. a. O.) betrachtet es wie ein Ketose-Reagens, wenn nicht länger als 10 Minuten im Wasserbade erhitzt wird. Es scheidet sich alsdann ein öliges Produkt aus, das im Kältegemisch kristallisiert. Aldosen scheiden nichts aus, oder ein öliges Produkt, das nicht zum Kristallisieren zu bringen ist. So kann d-Fruktose gut neben d-Glukose nachgewiesen werden.

Wir müssen jedoch im Auge behalten, daß sich Schwierigkeiten vortun können, nämlich bei Anwesenheit von Monosacchariden, welche intermediär ein schwerlösliches Methylphenylhydrazon bilden, nämlich l-Arabinose, d-Mannose und d-Galaktose. Xylose, Rhamnose und d-Glukose stören in dieser Hinsicht nicht. Auch in anderer Hinsicht stören diese weniger, welche entweder nichts ausscheiden oder ein Öl bilden, das nicht zum Kristallisieren zu bringen ist. Die Schwierigkeit bei Arabinose, Mannose und Galaktose liegt hierin, daß viel länger wie 10 Minuten erhitzt werden muß, um das inzwischen abgeschiedene Hydrazon in Osazon zu verwandeln. Das gelingt zwar, sei es auch, daß viel ölförmige

---

[1]) R. Ofner, Über die Einwirkung von Methylphenylhydrazin auf Zucker. Ber. **37**, 2603 (1904).

[2]) A. W. van der Haar, Diss. Bern 1913 und Beiträge zur Chemie der Saponine. Bio. **76**, 340 (1916).

Zersetzungsprodukte gebildet werden, welche die Kristallisation der Fruktoseverbindung zu hemmen suchen; überdies zersetzt sich das Fruktose-α-Methylphenylosazon teilweise, der längeren Erhitzung zufolge.

Die störende Wirkung der Hydrazonbildung, wenn Arabinose, Mannose und Galaktose vorliegen, wird aufgehoben, wenn diese zuvor entfernt werden (siehe Trennungen Kapitel VIII). Bei negativem Ausfall der Osazonbildung ist es nicht angebracht, sofort auf die Abwesenheit der Fruktose zu schließen. Es kann einige Tage dauern, bevor die Kristallisation beginnt; das ist ebenso der Fall, wenn nur 200 mg Fruktose in Reaktion genommen wird. Jedenfalls geht ziemlich viel durch Nebenreaktionen verloren.

Obwohl nach den von Neuberg (a. a. O.) gegebenen Bedingungen das α-Methylphenylhydrazin für Ketosen charakteristisch ist, ist hier doch mehreren Faktoren Rechnung zu tragen, und ist Vorsicht im Schlüsseziehen Bedingung. Es ist mir vorgekommen, daß wenig Fruktose vorlag und nicht als α-Methylphenylosazon nachgewiesen werden konnte, jedoch mittels der Farbreaktionen wahrscheinlich gemacht wurde.

d-Fruktose-α-Methylphenylosazon

Nach der Neubergschen Vorschrift wurde ein öliges Produkt erhalten, welches nach 1,5 Tagen braune Kristalle ergab. Nach Abkühlung im Kältegemisch wurden sie auf einem Saugfilter gesammelt und mit W. gewaschen. Sie wurden in Chloroform gelöst und mittels Petrol-Äther niedergeschlagen. Das wurde einige Male wiederholt. Es waren gelbe, nicht schön gebildete Blättchen, 1. Schmelzpunkt 158—159°, 2. 159° (Aufbrausen 160°). Nach Umkristallisierung aus 10%-A. entstanden gut gebildete Kristallblättchen, vom Schmelzpunkt 161—162°.

Für Trennungen siehe Kapitel VIII.

Weil das α-Methylphenylhydrazin unter obengenannten Bedingungen ein typisches Ketosereagens ist, wurde nicht versucht, die Verbindung aus der d-Glukuronsäure darzustellen. Höchstwahrscheinlich wird eine Verbindung nicht entstehen, oder wird keine zur Abscheidung oder Kristallisation gelangen.

e) α-Benzylphenylosazone

Diese von C. Neuberg (a. a. O.) für den Ketosennachweis empfohlenen Verbindungen können in rein wissenschaftlicher Hinsicht Wert besitzen und ebenso von praktischem Wert sein in jenen

Fällen, in welchen etwas größere Mengen Ketosen aufgeopfert werden können; für den Nachweis kleinerer Mengen Ketosen erachte ich sie weniger geeignet. Neuberg (a. a. O.) selber wies schon darauf hin, daß die Hauptmasse des Osazons sich verharzt. Es gelang mir denn auch nicht, aus $^1/_4$ g Fruktose ein Osazon darzustellen, so, daß ich Sicherheit erlangte, es mit einem reinen Osazon zu tun zu haben. Überdies hat l-Arabinose den Nachteil, daß ein intermediär entstandenes Hydrazon dem Übergang in Osazon hartnäckig Wiederstand bietet. Aus $^1/_4$ g Aldose konnte kein Benzylphenylosazon erhalten werden.

Es wurde daher nicht versucht, aus der d-Glukuronsäure eine derartige Verbindung zu erhalten. Sie wird höchstwahrscheinlich wohl nicht zur Kristallisation zu bringen sein.

d-Fruktose-α-Benzylphenylosazon

Neuberg (a. a. O.) erhitzt 1,8 g d-Fruktose in wenig W., mit 6 g des Hydrazins, 4 ccm 50 %iger Essigsäure und A. zur klaren Lösung. Ein öliges Produkt, welches nach 12 St. kristallinisch fest wurde. Nach Absaugen wurde es aus Pyridin mittels Ligroin niedergeschlagen; aus 60%-A. umkristallisiert und mit abs. A., dann abs. A. + Ä. gewaschen, bis es lichtgelb aussah. Schmelzpunkt 190°. $\alpha_D = -1^0\ 32'$ (Neuberg).

Löslich in heißem A., Azeton, Äthylazetat und Benzol, sehr leicht in Pyridin, wenig in kaltem A. und W.

f) Diphenylosazone

Es besitzt in dieser Hinsicht geringen praktischen Wert (siehe Neuberg a. a. O). Neuberg (a. a. O.) behandelte 1,8 g Fruktose, wie bei „Benzyl" beschrieben, aber in einem Kältegemisch, und erhielt das Osazon mit Schmelzpunkt 167° in sehr geringer Ausbeute.

g) p-Nitrophenylosazone

1. l-Arabinose-p-Nitrophenylosazon

In der Weise, wie bei Glukose von Hyde angegeben, behandelt, wurde ein rotbraunes Osazon erhalten, das aus pyridinischer Lösung mittels Ä. rotbraun niedergeschlagen wurde. Nach einmaliger Wiederholung ist es von schwarzbrauner Farbe. Es ist also für Arabinose als ungeeignet zu betrachten.

2. Xylose-p-Nitrophenylosazon

Ist ebenso wie bei Arabinose ungeeignet.

3. Rhamnose-p-Nitrophenylosazon

Lit.: F. Feist[1]) erhielt dieses Osazon durch Erhitzen von 1 Mol. Rhamnose mit 4 Mol. Nitrobase in verdünnter Salzsäure im Wasserbade. Zinnoberrote, mikroskopische Nädelchen, Schmelzpunkt 208°.

Darstellung und Schmelzpunkt:

In der Weise, wie bei Glukose von Heyde beschrieben, behandelt, wird ein rotbraunes Osazon erhalten, das aus Pyridin-Lösung von Ä. niedergeschlagen wurde, Schmelzpunkt 229°. Nach abermaligem Lösen in Pyridin wurde es merkwürdigerweise nicht von Ä. niedergeschlagen; das fand erst nach Hinzugabe von Petrol-Äther statt. 1. Schmelzpunkt 235°, 2. 236° (unter Aufbrausen). Nach abermaliger Behandlung wie oben, wurde das erhaltene Osazon mit Ä. und mit abs. A. gewaschen. Schmelzpunkt 234°. Aus dem Filtrate wurde mittels Petrol-Äthers ein undeutlich kristallinischer Niederschlag erhalten, Schmelzpunkt 238°.

Zinnoberrot und also Schmelzpunkt 236°.

4. d-Glukose-p-Nitrophenylosazon

Lit.: E. Hyde[2]) bringt die Komponenten in Eisessig zusammen. Das erhaltene Osazon wurde aus Pyridin-Lösung mittels Ä. als ein rotes Osazon, vom Schmelzpunkt 257° niedergeschlagen.

Alb. v. Ekenstein und Blanksma[3]) erhielten ebenso den Schmelzpunkt 257°.

Eigenschaften:

In fast allen Lösungsmitteln unlöslich (Hyde). α_D in Pyridin-Methylalkohol = —21,4° (Alb. v. E. u. Bl.).

Darstellung und Schmelzpunkt:

Wie von Hyde (a. a. O.) beschrieben, behandelt, entsteht ein rotbraunes Osazon, das mit Eisessig und abs. A., dann mit Pyridin, in welchem es schwer löslich ist, gewaschen wurde, schließlich wieder mit abs. A. Es war ein steinrotes Osazon, mit Schmelzpunkt 252°. Der Schmelzpunkt konnte nicht höher gebracht werden, auch nicht durch Lösen in Pyridin und Niederschlagen mittels Ä. Der Schmelzpunkt 257° wurde, nach der hier befolgten Bestimmungsmethode wenigstens, nicht erreicht.

Also Schmelzpunkt 252°.

---

[1]) F. Feist, Notiz über Hydrazonen und Osazonen aus p-Nitrophenylhydrazin. Ber. 33, 2098—2099 (1900).

[2]) E. Hyde, Zur Kenntnis der p-Nitrophenylhydrazine. Ber. 32, 1810—1818. (1899).

[3]) W. Alb. v. Ekenstein und J. J. Blanksma. Rec. 22, 434.

5. d-Mannose-p-Nitrophenylosazon

Es stellte sich heraus, daß ein Teil des intermediär gebildeten Hydrazons dem Übergang in Osazon hartnäckig Widerstand bietet. Nicht nur, daß es für den Mannose-Nachweis wertlos ist, sondern es wirkt bei den übrigen Monosacchariden störend.

6. d-Galaktose-p-Nitrophenylosazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein und Blanksma (a. a. O.) erhielten es in gelben Nadeln, mit Schmelzpunkt 192° und α_D in Pyridin-Methylalkohol = + 45,6°.

Darstellung und Schmelzpunkt:

In der von Hyde (a. a. O.) angegebenen Weise behandelt, wurde nach 24 St. ein schwarzbraunes Osazon gesammelt, das nicht rein erhalten wurde. Es war in Pyridin gut löslich.

7. d-Fruktose-p-Nitrophenylosazon

Lit.: Alb. v. Ekenstein und Blanksma (a. a. O.) erklärten es mit der d-Glukoseverbindung identisch, Schmelzpunkt 257°.

Darstellung und Schmelzpunkt:

In der bei d-Glukose beschriebenen Weise behandelt, wurde ein Osazon mit Schmelzpunkt 251° erhalten.

8. d-Glukuron-p-Nitrophenylosazon

100 mg d-Glukuron in 2 ccm Eisessig gelöst, wurden mit einer Lösung aus 200 mg des Hydrazins in 2 ccm Eisessig im Wasserbade erhitzt. Nach Abkühlung kristallisierte ein rotbraunes Osazon aus. Es wurde gesammelt und mit Eisessig und abs. A. gewaschen. Es waren keine Anhaltspunkte für die sichere Reinheit des Osazons vorhanden, weil es in Pyridin löslich ist und mittels Ä. und Petrol-Äthers nicht zur geeigneten Abscheidung zu bringen war. Es wurde daher keine Schmelzpunktbestimmung gemacht.

Identifizierungswert der p-Nitrophenylosazone

Für d-Glukuronsäure wertlos und für die Monosaccharide, außer für d-Glukose und d-Fruktose, welche Verbindungen in Pyridin schwer löslich sind, sehr geringen Wertes. Überdies stört d-Mannose durch Hydrazonbildung.

Die d-Glukuronsäureverbindung stört die Identifizierung der d-Glukose und der d-Fruktose nicht, weil sie in Pyridin löslich ist. Und nur die in Pyridin schwer löslichen Verbindungen sind als rein zu betrachten.

Für Trennungen siehe Kapitel VIII.

Schmelzpunkttabelle

	l-Arabinose	Xylose	Rhamnose	Fukose	d-Glukose	d-Mannose	d-Galaktose	d-Fruktose	d-Glukuron-säure
Phenylhydrazon	152—153°	—	159—160°	170°	112°	199°	158°	—	—
p-Bromphenylhydrazon	168° s 167° n	— s 128—129° n	— s 168—169° n	178° s — n	— s — n	206° s 208° n	165° s 168° n	— s — n	141—142° s —
α-Methylphenylhydrazon	165°	112°	124°	180°	—	181°	190—191°	—	—
α-Benzylphenylhydrazon	174°	95°	124°	178°	162°	170—171°	157°	—	147°
β-Naphthylhydrazon	174—175°	—	192—193°	200—201°	—	186—187°	189—190°	—	164—165°
Diphenylhydrazon	204°	—	135—136°	197—198°	162°	158—159°	157—158°	—	—
p-Nitrophenylhydrazon	182° a 186° w	158—159°	190—191°	210—211°	189° n 192° s	202°	194° a 196—197° w	180—181°	224—225°
m-Nitrophenylhydrazon	184°	163°	159—160°	204°	—	166—167°	181°	—	—
o-Nitrophenylhydrazon	183°	—	154°	181°	—	171°	177—178°	156—157°	174° a 170° w
Benzhydrazon	212° a 207° w	176° a — w	189° a — w	197° a — w	193° a — w	185° a — w	192—193° a — w	— a — w	— a 160—161° w
p-Brombenzhydrazon	216°	—	191°	205—209°	201°	198°	213—214°	—	127—128°
p-Nitrobenzhydrazon	186°	—	—	—	—	—	—	—	—
o-Nitrobenzhydrazon	—	—	185—186°	—	—	—	—	—	—
p-Tolylhydrazon	160°	—	166°	169°	—	190—191°	168°	—	170°
o-Tolylhydrazon	—	—	—	—	—	—	176°	—	—
Phenylosazon	165—166°	163°	182°	177,5°	210°	210°	184°	210°	—
p-Bromphenylosazon	185°	—	218°	200—202°	215—216°	—	—	214°	205—208°
α-Methylphenylosazon	—	—	—	—	—	—	—	161—162°	—
α-Benzylphenylosazon	—	—	—	—	—	—	—	190°	—
p-Nitrophenylosazon	—	—	236°	—	252°	—	—	251°	—
p-Bromphenylosazon des Baryumsalzes	—	—	—	—	—	—	—	—	215—216° 210°

s = aus saurer Lösung; n = aus neutraler Lösung; w = aus wässeriger Lösung; a = aus alkoholischer Lösung.
Tabelle der in dem Rothschen Apparate bestimmten Schmelzpunkte.

Kapitel VII

Die Wiedergewinnung der Monosaccharide aus den Hydrazonen

Wenn ein Monosaccharid mittels seiner Hydrazinverbindungen oder in anderer Weise identifiziert ist, kann es aus einem geeigneten Hydrazon auf verschiedene Weisen wiedergewonnen werden, zwecks seiner Identitätsbestimmung mittels seiner physischen Konstanten. Diese allgemeinen Methoden gehen den Trennungen voran, damit an Ort und Stelle oder weiter im Untersuchungsgang auf diese Methoden verwiesen werden kann. Wir sind also imstande, die einzelnen Monosaccharide aus Gemischen in größerem Maßstabe zu erhalten.

Die folgenden Methoden sind dafür in Gebrauch geraten:

1. Benzaldehydmethode nach Herzfeld und de Witt[1])

Diese Methode wird benutzt, wenn die Monosaccharide als Phenylhydrazone abgeschieden sind. Sie werden vollkommen von Benzaldehyd gespalten in folgender Weise:

2 g des reinen Hydrazons werden während 5 Stunden mit 1,6 g Benzaldehyd, 14 g 95%-A. und 10 g W. erhitzt. Das Filtrat des nach Abkühlung auskristallisierten Benzaldehydhydrazons wird nach Vertreibung des Alkohols dreimal mit Äther ausgeschüttelt, um überschüssiges Benzaldehyd und Benzoësäure zu entfernen. Die wässerige Flüssigkeit wird zur Sirupdicke eingedampft. Öfters kristallisiert das reine Monosaccharid ziemlich rasch aus.

2. Formaldehydmethode nach Ruff-Ollendorff und Browne

R. und O.[2]) führten für die Zersetzung der Hydrazone, speziell für die zusammengesetzten, den 40%igen Formaldehyd ein.

---

[1]) A. Herzfeld, Über die spez. Drehung der Azetylmaltose und Maltose. Ber. 28, 442 (1895).

[2]) O. Ruff und G. Ollendorff, Verfahren z. Reindarstellung und Trennung von Zuckern. Ber. 32, 3234—3237 (1899).

Browne[1]) verringerte die Menge Formaldehyd, um zu vermeiden, das Übermaß an Formaldehyd entfernen zu müssen.

Die Methode ist wie folgt:

2 g Hydrazon werden mit 18 g 95%igem A. und 1,5 g 40%iger Formaldehydlösung erhitzt und die Flüssigkeit auf $^1/_3$ eingedampft, schließlich noch während 2 Stunden im Wasserbade rückfließend erhitzt, nach Hinzugabe von 10 ccm Wasser wird dreimal mit Äther ausgeschüttelt. Die wässerige Flüssigkeit wird zur Sirupdicke eingedampft, nach Hinzufügung von etwas absolutem Alkohol wieder eingedampft und das noch einige Male wiederholt zur völligen Entfernung vom Aldehyd. Dann kann das Monosaccharid zum Kristallisieren hingestellt werden.

Falls wir mit β-Naphthylhydrazon zu tun haben, lassen Hilger und Rothenfusser (a. a. O.) mit Äthylazetat ausschütteln statt mit Äther.

Ich fand, daß das ebenso der Fall ist bei den Nitrophenylhydrazonen, p-Brombenzhydrazonen und den p- und o-Nitrobenzhydrazonen.

Bei den Nitrophenylhydrazonen ist es erwünscht, wenig wässerige Flüssigkeit zu erhalten und öfter als dreimal mit nicht zu wenig Äthylazetat auszuschütteln, um die Farbe möglichst ganz zu entfernen.

Bei den Diphenylhydrazonen ist es nötig, ein großes Übermaß an Formaldehyd zu benutzen, weil sie sonst sehr unvollständig zersetzt werden.

---

[1]) C. A. Browne, Über die Bestandteile des Maismarkes. Diss. Göttingen 1901 und Ber. **35**, 1457—1467 (1902).

Kapitel VIII

Identifizierung und Trennung der Monosaccharide und d-Glukuronsäure mittels eines oder mehrerer Hydrazine

A. Empfindlichkeit der Bildung und Ausscheidung der verschiedenen charakteristischen Hydrazone aus reiner und aus unreiner Lösung.

Bemerkungen:

Die Kristallisierung von Hydrazonen wird durch die Gegenwart anderer Hydrazone, durch Anhäufung von Hydrazinen und durch die Gegenwart sogenannter Verunreinigungen mehr oder weniger stark gehemmt. Dieser Einfluß kann so weit gehen, daß Kristallisierung, auch auf längere Zeit, ausbleibt.

Zum Teil sind wir imstande, den Einfluß, welchen sogenannte Verunreinigungen ausüben, zu umgehen, falls wir uns viel Mühe geben, jene möglichst zu entfernen, ja, das als eine erste Bedingung betrachten (siehe Kap. IX).

Die Anhäufung von Hydrazinen und Hydrazonen können wir umgehen, wenn wir aus diesen die Saccharide mittels Benzaldehyds oder Formaldehyds wiedergewinnen (siehe Kap. VII).

Falls Kristallisierung ausbleibt, kann mit der zu erwartenden Verbindung geimpft werden; dieses Hilfsmittel wende man jedoch nicht zu bald an.

Bei alledem werden uns aber praktisch Grenzen gezogen. Auf der anderen Seite ist es unmöglich, den Einfluß aller denkbar möglichen Verunreinigungen zu studieren, weil diese meistens nicht nur undefinierbare Substanzen sind, sondern überdies nach Art und Menge in jedem einzelnen Fall wechseln.

Ich habe versucht, einen Begriff davon zu geben, wie die Empfindlichkeit der Bildung und Ausscheidung der für bestimmte Monosaccharide charakteristischen Hydrazone beeinflußt wird.

Zwecks dieser Ausführung wurden einige Kombinationen von Monosacchariden untersucht, auch in Mischung mit farblosem Handelskartoffelsirup, also mit unreiner d-Glukose.

Durch die Gegenwart von Kartoffelsirup wird die Ausscheidung der Hydrazone ungünstig beeinflußt wegen seines Gehaltes an dextrinartigen Substanzen.

Stets wurde absichtlich viel von den Reaktionen verlangt; liegen nun gegebenenfalls die Monosaccharide unter günstigeren Verhältnissen vor, so gewinnen die Trennung und Identifizierung von selbst an Sicherheit. Aus Kap. VI kennen wir schon die Möglichkeit oder Unmöglichkeit der Ausscheidung von Hydrazonen usw. unter gewissen Bedingungen aus reinen Monosacchariden.

Die Ausscheidung der Osazone wird ihrer Entstehungsweise wegen von Verunreinigungen usw. weniger gestört. Ihre Reinigung aber wird dadurch sehr erschwert, weil ihre Löslichkeit sehr beeinflußt wird. Das wird bei den Trennungen unter C und D näher erörtert.

Was die Methylphenylosazone, welche für Ketosen nach C. Neubergs Angaben charakteristisch sind (siehe Kap. VI), anbetrifft, so wird ihre Ausscheidung mehr oder weniger stark von anderen Sacchariden beeinflußt (siehe auch Ketosen-Reaktionen, S. 86).

1. Mannose-Phenylhydrazon

Wir haben schon in Kap. VI, S. 152, gesehen, daß das Hydrazon in verdünnt-wässeriger Lösung für d-Mannose, mit geringer Aussicht auf Fukose, charakteristisch ist, während andere Monosaccharide sich erst in konzentrierter Lösung ausscheiden.

Empfindlichkeit der Reaktion:

a) 100 mg d-Mannose + 7 × 100 mg der anderen Saccharide in 10 ccm W. gelöst, wurden mit 800 mg Phenylhydrazin und 1,6 ccm 25%iger Essigsäure versetzt. Nach einigen Stunden konnte ein Hydrazon gesammelt und nach S. 149 umkristallisiert werden. Schmelzpunkt war 200°, also die Mannoseverbindung.

b) 100 mg Mannose + 100 mg Fukose, wie bei a mit entsprechenden Mengen Hydrazin und Essigsäure behandelt, gaben ein Hydrazon, das bei 200° schmolz, also die Mannoseverbindung.

c) 50 mg d-Mannose + 500 mg Kartoffelsirup, wie bei b behandelt, gaben bald ein Hydrazon, nach 24 St. etwa 100 mg. Schmelzpunkt wieder 200°, nach Umkristallisierung wie bei a.

Schlußfolgerung:

Das Phenylhydrazon ist als ein empfindliches Reagens auf d-Mannose, auch neben anderen Mono-

sacchariden und in mehr oder weniger unreiner Lösung zu betrachten.

2. d-Mannose-, Fukose- und l-Arabinose-p-Bromphenylhydrazon

Wir haben aus Kap. VI gesehen, daß nur obengenannte Hydrazone sich ausscheiden, wenn in essigsaurer Lösung behandelt wird; die anderen nicht, während die Möglichkeit besteht, daß auch d-Galaktose sich ausscheidet (siehe für d-Glukuronsäure ebenso Kap. VI, S. 161).

Empfindlichkeit der Reaktion:

a) 100 mg Arabinose + 100 mg Xylose + 100 mg Rhamnose + 100 mg d-Glukose + 100 mg d-Galaktose, in 5 ccm W. gelöst, wurden mit einer filtrierten Lösung aus 1 g des Hydrazins in 5 ccm W. + 3,5 ccm 50 % Essigsäure gemischt. Es schied sich eine geringe Menge einer Substanz aus, welche nach Auswaschung mit W., abs. A. und Ä. fast ganz verschwand.

Arabinose war also hier nicht nachweisbar. Die Reaktion ist aber für d-Mannose viel empfindlicher, wobei unter denselben Bedingungen die Mannoseverbindung sich bald ausscheidet, die nach zweimaliger Umkristallisierung aus 50%-A. bei 206° schmolz. Ja, 50 mg d-Mannose konnte noch nachgewiesen werden.

b) 100 mg l-Arabinose neben 900 m Kartoffelsirup in 10 ccm Flüssigkeit war nicht nachweisbar.

Schlußfolgerung:

Besonders für d-Mannose ist das p-Bromphenylhydrazin in essigsaurer Lösung als ein empfindliches Reagens zu betrachten, desgleichen für Fukose.

Für l-Arabinose ist es ein ziemlich empfindliches Reagens; in unreiner Lösung aber, sowie neben anderen reinen Monosacchariden in etwas ungünstigen Verhältnissen, ist es ein weniger empfindliches Reagens, aber recht gut brauchbar bei günstigeren Verhältnissen.

3. l-Arabinose-, Fukose-, d-Mannose- und d-Galaktose-α-Methylphenylhydrazon

Wir haben in Kap. VI erfahren, daß obengenannte Hydrazone sich ausscheiden, die der Xylose, der Rhamnose, der d-Glukose und der d-Fruktose nicht (für d-Glukuronsäure siehe S. 166).

Empfindlichkeit der Reaktion:

a) 50 mg l-Arabinose + 200 mg Kartoffelsirup in 2,5 ccm W. wurden mit 400 mg des Hydrazins und A. zur klaren Lösung gemischt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon gesammelt und umkristallisiert. Schmelzpunkt war 165 °, der der Arabinoseverbindung.

b) 50 mg l-Arabinose + 120 mg Xylose + 100 mg Kartoffelsirup, wie bei a behandelt, gaben nach 24 St. keine Kristallisation. Nach Schütteln im Kaltwasserstrahl entstand bald ein Hydrazon, das nach zweimaliger Umkristallisierung wie bei a bei 165 ° schmolz, also die Arabinoseverbindung.

c) 50 mg d-Galaktose + 100 mg Rhamnose + 100 mg Kartoffelsirup gaben, wie bei a behandelt, ein Hydrazon, das nach 3 Stunden, und nach S. 166 umkristallisiert, bei 190 ° schmolz, also die Galaktoseverbindung. Nach 24 Std. wieder eine Kristallisation mit Schmelzpunkt 189 °.

d) 50 mg d-Mannose + 100 mg Xylose + 100 mg Kartoffelsirup gaben, wie bei a, behandelt, in 3 St. nichts. Nach Abkühlung und Schütteln entstand bald eine Kristallisation, welche als die Mannoseverbindung identifiziert wurde.

Schlußfolgerung:

Das α-Methylphenylhydrazin ist für l-Arabinose, d-Mannose, sowie für Fukose und Galaktose ein gutes Reagens, auch neben anderen Monosacchariden, und in mehr oder weniger unreiner Lösung bei etwas ungünstigen Verhältnissen.

4. l-Arabinose- und Fukose-α-Benzylphenylhydrazon

Wir haben in Kap. VI gesehen, daß in 75 % Alkohol sich beide ausscheiden, d-Galaktose bisweilen, die andere nicht.

Empfindlichkeit der Reaktion:

a) 100 mg l-Arabinose neben 6 × 100 mg der anderen Monosaccharide (also außer Fukose) waren, nach S. 167 behandelt, gut nachweisbar.

b) 50 mg Arabinose + 100 mg Rhamnose wurden mit 150 mg des Hydrazins und 5 ccm 75 % A. zur klaren Lösung erhitzt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon gesammelt und zweimal aus 75 % A. umkristallisiert. Schmelzpunkt 173 °, also die Arabinoseverbindung.

Ebenso waren 25 mg Arabinose neben 100 mg Rhamnose noch gut nachweisbar.

c) 100 mg l-Arabinose + 900 mg Kartoffelsirup gaben, wie bei a behandelt, bald ein Hydrazon, das nach zweimaliger Umkristallisierung bei 174° schmolz, also die Arabinoseverbindung war.

Ebenso konnten noch 50 mg Arabinose unter denselben Verhältnissen nachgewiesen werden.

Schlußfolgerung:

Das α-Benzylphenylhydrazin ist für Arabinose, auch in ungünstigen Verhältnissen zu anderen Monosacchariden, auch in mehr oder weniger unreiner Lösung, ein empfindliches Reagens zu nennen (ebenso für Fukose).

5. l-Arabinose-, Fukose-, Rhamnose-, d-Mannose- u. d-Galaktose-β-Naphthylhydrazon (und Glukuronsäure)

Wir haben aus Kap. VI erfahren, daß obengenannte Hydrazone sich ausscheiden, das der d-Glukose nach 24 Stunden, das der Xylose und der d-Fruktose nicht.

Empfindlichkeit der Reaktion:

a) Schon bei reinen Gemischen wird die Kristallisation gehemmt.

b) 100 mg l-Arabinose + 100 mg d-Fruktose + 900 mg Kartoffelsirup in 1 ccm W. gelöst, mit 1 g des Hydrazins und 10 ccm abs. A. erhitzt, gaben nach 24 St. fast keine Ausscheidung, auch nach Abkühlung nicht, ebensowenig nach Impfung mit der Arabinoseverbindung.

Mindestens 200 mg Arabinose sind unter diesen Verhältnissen für die Identifizierung nötig.

Schlußfolgerung:

Die β-Naphthylhydrazone werden in ihrer Kristallisierung ziemlich stark gehemmt, wenn mehrere Hydrazone, und wenn Verunreinigungen vorliegen, und ist die Reaktion nicht empfindlich zu nennen.

6. l-Arabinose- und Fukose-Diphenylhydrazon

Wir haben aus Kap. VI gesehen, daß beide sich ausscheiden, die anderen nicht.

Empfindlichkeit der Reaktion:

a) 100 mg l-Arabinose + 100 mg Xylose + 100 mg d-Fruktose + 500 mg Kartoffelsirup in 5 ccm W. gelöst, gaben mit 500 mg Hydrazin und A. zur klaren Lösung in 24 St. eine Kristallisation usw. siehe S. 178. Schmelzpunkt 201°, bei 2. Bestimmung 203—204°, also die Arabinoseverbindung.

Schlußfolgerung:

Das Diphenylhydrazin ist für l-Arabinose (und für Fukose), auch neben anderen und in mehr oder weniger unreiner Lösung, ein empfindliches Reagens zu nennen.

7. l-Arabinose-, Rhamnose-, Fukose-, d-Glukose-, d-Mannose-, d-Galaktose- und d-Fruktose-p-Nitrophenylhydrazon (ebenso d-Glukuronsäure)

Aus Kap. VI erhellt, daß obenstehende Hydrazone niederschlagen, das der Xylose nicht.

Empfindlichkeit der Reaktion:

a) 200 mg Kartoffelsirup (d-Glukose) + 250 mg Xylose + 5 ccm 96%-A. wurden mit 400 mg des Hydrazins erhitzt, bis alles Saccharid gelöst war. Die Flüssigkeit wurde von einer geringen Menge Schmiere abgegossen. Nach 24 St. (t = etwa 25°), sowie nach Abkühlung in Eiswasser, wurde nur eine sehr kleine Menge einer braunroten Substanz erhalten.

b) Ebenso ungünstig war das Resultat mit 250 mg Kartoffelsirup + 250 mg Xylose.

Weil aus D dieses Kapitels ersichtlich werden wird, daß 200 mg reine d-Glukose neben 200 mg Xylose gut identifizierbar ist, muß das Mißlingen der obigen Identifizierung den Verunreinigungen des Kartoffelsirups zugeschrieben werden.

Schlußfolgerung:

Das p-Nitrophenylhydrazin ist für obenstehende Saccharide ein ziemlich empfindliches Reagens zu nennen; in mehr oder weniger verunreinigter Lösung ein wenig empfindliches.

8. l-Arabinose-, Xylose-, Fukose-, d-Mannose- und d-Galaktose-m-Nitrophenylhydrazon

Aus Kap. VI erhellt, daß obenstehende Hydrazone sich ausscheiden; Rhamnose, d-Glukose und d-Fruktose nicht, oder sie bleiben beim Umkristallisieren gelöst.

Empfindlichkeit der Reaktion:

200 mg Xylose + 800 mg Kartoffelsirup in 1 ccm W. gelöst, und mit 400 mg des Hydrazins und 6 ccm abs. A., wie bei „para“ beschrieben, erhitzt, gaben nach 2 Tagen, auch bei niedriger Temperatur, keine Ausscheidung. Auch hier sind die Verunreinigungen des Kartoffelsirups daran schuld. Übrigens ist das m-Nitrophenylhydrazin kein empfindliches Reagens für Xylose.

b) 200 mg d-Mannose + 250 mg d-Fruktose + 400 mg Kartoffelsirup, wie bei a behandelt, gaben ebensowenig eine Hydrazonausscheidung.

Schlußfolgerung:

Während m-Nitrophenylhydrazin schon kein empfindliches Reagens für Xylose zu nennen ist, ist das in mehr oder weniger unreiner Lösung noch mehr der Fall.

9. l-Arabinose-Benzhydrazid (siehe auch d-Glukuronsäure)

Aus Kap. VI erhellt, daß beide sich aus wässeriger Lösung ausscheiden, Rhamnose erst nach längerer Zeit (3 Tagen), die andere nicht.

Empfindlichkeit der Reaktion:

a) 200 mg l-Arabinose + 500 mg Kartoffelsirup in 4 ccm W. gelöst, wurden mit 300 mg Benzhydrazin schwach erwärmt, bis klare Lösung erfolgte. Nach 24 St. wurde die Kristallisation mit W. und mit 96 %-A. gewaschen, und aus 96 %-A. umkristallisiert. Schmelzpunkt war 209° der der Arabinoseverbindung.

Schlußfolgerung:

Das Benzhydrazin ist in wässeriger Lösung als ein empfindliches Reagens auf l-Arabinose zu betrachten, auch in mehr oder weniger verunreinigter Lösung (d-Glukuronsäure ebenso).

10. l-Arabinose-, Rhamnose-, Fukose-, d-Glukose-, d-Mannose- und d-Galaktose-p-Brombenzhydrazid (siehe auch d-Glukuronsäure)

Aus Kap. VI erhellt, daß obengenannte Hydrazide sich ausscheiden, die von Xylose und d-Fruktose nicht.

Empfindlichkeit der Reaktion:

a) 250 mg Kartoffelsirup + 100 mg Xylose in 250 mg W. gelöst, wurden mit 250 mg des Hydrazins und 6 ccm abs. A.

während 1/2 St. erhitzt, und die heiße Flüssigkeit in ein anderes Kölbchen abgegossen. Nach 2 Tagen fand keine Ausscheidung statt.

Schlußfolgerung:

Das p-Brombenzhydrazin ist für obenstehende Monosaccharide, besonders in mehr oder weniger unreiner Lösung, ein weniger empfindliches Reagens.

Die Verunreinigungen des Kartoffelsirups scheinen im allgemeinen mehr in alkoholischer als in wässeriger Lösung störend zu wirken.

11. l-Arabinose-, Rhamnose-, Fukose-, d-Mannose- und d-Galaktose-p-Tolylhydrazon
(siehe auch d-Glukuronsäure)

Aus Kap. VI erhellt, daß obenstehende Hydrazone sich ausscheiden, d-Glukose nach längerer Zeit, Xylose und d-Fruktose nicht.

Empfindlichkeit der Reaktion[1]):

a) 50 mg l-Arabinose konnten neben 50 mg Xylose + 50 mg d-Fruktose + 50 mg d-Glukose nachgewiesen werden.

b) 50 mg l-Arabinose + 250 mg Rhamnose (a. a. O.) gaben nur Kristalle der Rhamnoseverbindung.

Schlußfolgerung:

Für d-Mannose (a. a. O.) hat das p-Tolylhydrazin sich als ein sehr empfindliches Reagens erwiesen, für andere ein empfindliches, aber weniger spezifisches. Für Xylose und Fruktose kein Reagens.

12. d-Galaktose-o-Tolylhydrazon

Aus Kap. VI erhellt, daß nur die d-Galaktose sich als o-Tolylhydrazon ausscheidet, die anderen nicht.

Empfindlichkeit der Reaktion[2]):

a) 50 mg d-Galaktose in 2 Tropfen W. gelöst und mit 60 mg aus W. umkristallisiertem Hydrazin (abgesogen, nicht getrocknet) und 2 ccm abs. A. erhitzt, gaben 70 mg Hydrazon.

b) 100 mg d-Galaktose + 900 mg Kartoffelsirup, wie a. a. O. behandelt, gaben eine für Identifizierung ausreichende Menge Hydrazon.

---

[1]) A. W. van der Haar, Rec. 36, 351 (1917).

[2]) A. W. van der Haar, Rec. 37, 109 (1917).

c) 100 mg d-Galaktose + 50 mg l-Arabinose + 50 mg Xylose + 50 mg Rhamnose + 50 mg d-Glukose + 50 mg d-Mannose + 50 mg d-Fruktose, wie a. a. O. behandelt, gaben 50 mg d-Galaktose-o-Tolylhydrazon vom Schmelzpunkt 175°.

d) 50 mg d-Galaktose, übrigens wie bei c behandelt, gaben keine Hydrazonausscheidung.

Schlußfolgerung:

Das o-Tolylhydrazin ist für d-Galaktose ein empfindliches und charakteristisches Reagens zu nennen, auch in mehr oder weniger unreiner Lösung, und auch neben anderen Monosacchariden.

B. Identifizierung bei Gegenwart eines Monosaccharids

Aus den Ergebnissen des Kap. VI können wir leicht ermitteln, welche Hydrazine geeignet sind, ein Monosaccharid zu identifizieren, und wir müssen dabei einen Unterschied machen zwischen Identifizierungsmitteln, welche wir vorzugsweise anwenden sollen, und solchen, welche erst an zweiter Stelle, wenn dafür Material geopfert werden kann, zur näheren Bestätigung geeignet sind.

a) l-Arabinose

Vorzugsweise als:

α-Benzylphenylhydrazon (S. 167), Diphenylhydrazon (S. 178), p-Bromphenylhydrazon (S. 153), α-Methylphenylhydrazon (S. 162) und Benzhydrazid (S. 197).

An zweiter Stelle:

p-, m- und o-Nitrophenylhydrazon (S. 182), Phenylhydrazon (S. 145), Phenylosazon (S. 211), β-Naphthylhydrazon (S. 172), p-Tolylhydrazon (S. 205), p-Brombenzhydrazid (S. 198), p- und o-Nitrobenzhydrazid (S. 201) und p-Bromphenylosazon (S. 216).

b) Xylose

Vorzugsweise als:

Xylonsaures Cadmiumbromcadmium (S. 58), m-Nitrophenylhydrazon (S. 184) und als Osazon (S. 211).

An zweiter Stelle:

Benzhydrazid (S. 194) und als Formalmethylenxylosid (S. 208).

c) Rhamnose

Vorzugsweise als:

β-Naphthylhydrazon (S. 174), p-Nitrophenylhydrazon (S. 184), p-Tolylhydrazon (S. 205), Phenylosazon (S. 212), p-Brombenzhydrazid (S. 199) und p-Bromphenylosazon (S. 217).

An zweiter Stelle als:

Phenylhydrazon (S. 147), p- und o-Nitrophenylhydrazon (S. 184, 185), Benzhydrazid (S. 195) und o-Nitrobenzhydrazid (S. 203).

d) Fukose

Vorzugsweise als:

p-Bromphenylhydrazon (S. 158), Phenylhydrazon (S. 147), α-Methylphenylhydrazon (S. 164), Diphenylhydrazon (S. 179), β-Naphthylhydrazon (S. 174), p-, m- und o-Nitrophenylhydrazon (S. 185), Benzhydrazid (S. 195) und p-Tolylhydrazon (S. 205).

An zweiter Stelle als:

Phenylosazon (S. 213), p-Brombenzhydrazid (S. 199) und p-Bromphenylosazon (S. 218).

e) d-Glukose

Vorzugsweise als:

Phenylosazon (S. 213), p-Nitrophenylhydrazon (S. 186), Zuckersaures Silber (S. 100), p-Brombenzhydrazid (S. 199), β-Naphthylhydrazon (S. 175), p-Bromphenylosazon (S. 218) und p-Nitrophenylosazon (S. 225).

An zweiter Stelle als:

Phenylhydrazon (S. 148).

f) d-Mannose

Vorzugsweise als:

Phenylhydrazon (S. 149), p-Tolylhydrazon (S. 205), p-Bromphenylhydrazon (S. 159), α-Methylphenylhydrazon (S. 165), Phenylosazon (S. 214), p-, m- und o-Nitrophenylhydrazon (S. 188).

An zweiter Stelle als:

p-Brombenzhydrazid (S. 200) und β-Naphthylhydrazon (S. 175).

g) d-Galaktose

Vorzugsweise als:

o-Tolylhydrazon (S. 206), α-Methylphenylhydrazon (S. 166), p-, m- und o-Nitrophenylhydrazon (S. 189), Phenylosazon (S. 214), Benzhydrazid (S. 196), p-Tolylhydrazon (S. 205), Schleimsäure (S. 103) und mit Laktosehefe (S. 109).

An zweiter Stelle als:

p-Brombenzhydrazid (S. 200), Diphenylhydrazon (S. 180), β-Naphthylhydrazon (S. 176) und Phenylhydrazon (S. 150).

h) d-Fruktose

Vorzugsweise als:

o- und p-Nitrophenylhydrazon (S. 191), Phenylosazon (S. 215), α-Methylphenylosazon (S. 223) und p-Nitrophenylosazon (S. 226).

An zweiter Stelle als:

α-Benzylphenylosazon (S. 224) und Diphenylosazon (S. 224).

C. Trennung und Identifizierung von Gruppen zweier Monosaccharide

Bemerkungen:

1. Die auf untenstehenden Seiten ausgeführten Trennungen und Identifizierungen sind mit den reinen Sacchariden ausgeführt worden, stets unter Benutzung eines Saugtrichterchens und eines Saugkölbchens, dessen Inhalt 50 ccm betrug, und der Luftpumpe, und zwar in der Weise, daß das zuerst auskristallisierte Hydrazon oder Osazon mit einer Flüssigkeit desselben Wasser- oder Alkoholgehaltes, wie der der Mutterlauge gewaschen wurde. Diese Waschflüssigkeit wird nicht mit der Mutterlauge vereint, sondern weggeworfen. In dieser Weise ist die Trennung von Kristallen und Mutterlauge so scharf wie möglich.

2. Stets wird die Menge Hydrazin gleich der Menge des anwesenden Saccharids genommen und eine entsprechende Menge Lösungsmittel.

3. Die Trennungen sind mit Mischungen aus 200 mg jedes Saccharids ausgeführt worden. Es ist also wünschenswert, diese Mengen in vorliegenden Fällen ganz oder wenigstens annähernd innezuhalten. Wenn es gegebenenfalls erwünscht sein möchte,

größere Mengen Saccharid in Arbeit zu nehmen, so sind auch entsprechende Flüssigkeitsmengen anzuwenden.

4. Für die „Empfindlichkeit" der verschiedenen Hydrazinreaktionen wird auf A dieses Kapitels verwiesen.

5. Immerhin bleibt die Möglichkeit bestehen, daß die Trennungen weniger leicht verlaufen, sogar mißlingen, wenn die Saccharide in zu unreinem Zustande erhalten worden sind. Jedenfalls ist es ratsam, negative Resultate unter Vorbehalt zu akzeptieren und näher zu kontrollieren. Auf der anderen Seite aber kann durch fortgesetzte Reinigung des Saccharidgemisches die Aussicht auf eine gute Trennung und Identifizierung sehr erhöht werden, ja, es ist als eine erste Bedingung zu betrachten, das mit Aufwand geringerer oder größerer Mühe zu verwirklichen zu suchen; meistenteils werden dann die Trennungen auch gelingen.

Bei den Trennungen ist angegeben, wo Vorsicht am Platze ist und Unsicherheit in der Trennung besteht infolge der Gegenwart von Verunreinigungen usw. Trennungen, welche schon große Aussicht auf Mißlingen bei reinen Monosacchariden aufweisen, werden nicht oder bedingungsweise erwähnt.

Wenn bei gewöhnlicher Temperatur innerhalb 24 St. nichts auskristallisiert, oder nach Schätzung zu wenig, ist es erwünscht abzukühlen (z. B. im Kaltwasserstrahl) und noch 24 St. abzuwarten.

Tritt nach längerer Zeit keine Kristallisierung ein, so ist die Trennung meistenteils als verfehlt zu betrachten, oder das gesuchte Saccharid liegt nicht vor.

Die Möglichkeit für das Mißlingen kann von obengenannten Verunreinigungen, aber ebensogut von einem ungünstigen Gewichtsverhältnisse der beiden Saccharide herrühren.

Es ist ja selbstverständlich, daß der Untersucher sich in jedem vorliegenden Fall einarbeiten muß, damit er die Verhältnisse so trifft, daß beide Saccharide identifiziert werden können; besonders wird das bei phytochemischer Forschung, wo fast jede Untersuchung einigermaßen einzeln dasteht, der Fall sein. Immerhin war ich bemüht, auf Schwierigkeiten hinzuweisen, und sie möglichst zu beseitigen.

6. Einige schon bestehende Trennungen wurden an Beispielen geprüft; die übrigen wurden neu angestellt.

7. In einigen Fällen gelingt es, das zweite Saccharid ohne weiteres im Filtrate des ersteren, mit demselben oder mit einem

anderen Hydrazin nachzuweisen; in den meisten Fällen aber, wie wir sehen werden, war es erforderlich, aus dem Filtrate des ersteren das zweite Saccharid mittels Benzaldehyd oder Formaldehyd möglichst rein darzustellen (damit die sehr kristallisationsstörende Anhäufung von Hydrazin und Hydrazon vermieden wird), und alsdann mittels eines Hydrazins oder irgend einer Reaktion nachzuweisen.

8. Ein aufgefundener Schmelzpunkt einer erhaltenen Verbindung soll mit dem Schmelzpunkt der reinen Verbindung verifiiert werden, wobei keine Schmelzpunkterniedrigung auftreten darf (siehe weiter Kap. II über die Schmelzpunktbestimmung).

I. l-Arabinose und Xylose

Wir können aus Kap. VI ableiten, daß Folgendes in Betracht kommen kann: α-Benzylphenyl-, Diphenyl-, p-Bromphenyl-, Benzoyl-, α-Methylphenyl-, o- und p-Nitrophenyl-, β-Naphthyl-, p-Tolyl- und p-Brombenzoylhydrazon für Arabinose; Xylonsäurereaktion, m-Nitrophenylhydrazon für Xylose.

An erster Stelle ist α-Benzylphenylhydrazon zu nennen (S. 167); alsdann folgen die anderen, außer o- und p-Nitrophenylhydrazonen, die erst an dritter Stelle folgen. Wenn geringere Mengen Xylose in den Filtraten vorlagen (z. B. 100 mg), war Xylose nach der Xylonsäurereaktion oder als m-Nitrophenylhydrazon ohne weiteres nicht nachzuweisen.

Eine gute Trennung ist folgende:

a) Aus einem Gemische von 200 mg Arabinose und 200 mg Xylose in 6 ccm 75 %-A. wurde die Arabinose mit 500 mg α-Benzylphenylhydrazin in 24 St. niedergeschlagen, und nach S. 168 mit Schmelzpunkt 172° identifiziert.

Das abgesogene Filtrat wurde ohne Waschalkohol mit 10 Tropfen 40 % Formaldehyd nach Kap. VII behandelt. Die gewonnene Xylose wurde nach der Xylonsäurereaktion (S. 58) identifiziert. Es entstanden die typischen bootförmigen Kristalle, und besonders schön, wenn die Kristalle in 1 ccm W. gelöst, nach Hinzugabe von 1 ccm abs. A. wieder zum Kristallisieren gebracht wurden.

Im Verhältnis 50 Arab. : 200 Xyl. ist die Arabinose noch gut nachweisbar; die Menge Xylose kann aber nicht viel unter 200 mg

gebracht werden. Noch eventuell etwas in Lösung gebliebene Arabinose stört die Reaktion nicht.

Ebenso ist es möglich, die erhaltene Xylose als m-Nitrophenylhydrazon nach S. 184 mit Schmelzpunkt 163° zu identifizieren. Diese Reaktion ist weniger sicher, weil eventuell etwas noch in Lösung gebliebene, also hier beigemischte Arabinose ebenso niederschlagen kann als Nitrophenylhydrazon, Schmelzpunkt 184°.

2. l-Arabinose und Rhamnose

Wir können aus Kap. VI ableiten, daß für die Abscheidung von Arabinose wieder ausgezeichnet das α-Benzylphenylhydrazin dienen kann, auch gut: Diphenyl-, α-Methylphenyl- und p-Bromphenylhydrazin (in essigsaurer Lösung). Weniger geeignet sind: m- und o-Nitrophenylhydrazin.

Folgende Trennungen wurden ausgeführt:

a) Aus einem Gemische von 200 mg l-Arabinose und 200 mg Rhamnose wurde, wie bei Trennung Arabinose-Xylose beschrieben, die Arabinose als α-Benzylphenylhydrazon identifiziert und aus dem Filtrate, wie dort angegeben, die Rhamnose gewonnen. Sie wurde in W. gelöst und mittels 200 mg α-Methylphenylhydrazin und A. zur klaren Lösung in Hydrazon umgewandelt, das nach Eindampfen nach 24 St. im Exsikkator fest wurde, und nach S. 164 umkristallisiert bei 124° schmolz, also die reine Rhamnoseverbindung darstellte.

Wenn unverhofft noch etwas Arabinose in Lösung geblieben ist, so kann sie stören, weil sie auch als α-Methylphenylhydrazon mit niederschlagen kann (Schmelzpunkt 165°).

b) Für l-Arabinose wurde wie bei a verfahren, für Rhamnose bis zu ihrer Wiedergewinnung. Die Rhamnose wurde in 5 ccm W. gelöst und nach S. 217 mit 600 mg salzsaurem p-Bromphenylhydrazin und 800 mg Natriumazetat behandelt. Ein halbfestes Osazon wurde abgetrennt und nach Auflösung in heißem 90%-A. mittels W. zur leichten Trübung, wieder zur Abscheidung gebracht. Nach Abwaschung mit 45%-A. und Umkristallisierung aus 90%-A. war der Schmelzpunkt 218°, also der der Rhamnoseverbindung.

Eventuell noch etwas beigemischte Arabinoseverbindung stört nicht, weil sie beim Umkristallisieren aus 90%-A. in Lösung bleibt.

c) Eine Reaktion auf Rhamnose, welche nicht von Arabinose gegeben wird, aber den Nachteil hat, nicht für kleinere Mengen

Rhamnose geeignet zu sein, ist ihre Umsetzung in Schleimsäure über die α-Rhamnohexonsäure nach E. Votoček und R. Potměšil[1]).

3. l-Arabinose und Fukose

Wir können aus Kap. VI ableiten, daß für die Trennung das Phenylhydrazon und das Benzhydrazid dienen können.

Wenn aber ein Hydrazin in einer Trennung benutzt wird, erheben sich Schwierigkeiten, z. B. wenn ein Gemisch aus 200 mg Arabinose und 200 mg Fukose in 3 ccm W. während 24 St. mit 400 mg Phenylhydrazin behandelt wurden. Wider Erwarten schlug nicht nur das Fukosehydrazon nieder, sondern auch das der Arabinose, und wurde demzufolge ein Zwischenschmelzpunkt 158° aufgefunden. Wurde nun dasselbe wiederholt in 10 ccm W., so blieb auch Fukosehydrazon in Lösung. Der Unterschied in Löslichkeit der beiden Hydrazone ist also nicht groß genug, darauf eine Trennung durchführen zu können.

Folgende Trennung wurde mit Erfolg ausgeführt:

Ein Gemisch aus 200 mg jeden Saccharids in 5 ccm W. wurde mit 400 mg Benzhydrazin bis zur völligen Lösung geschüttelt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon gesammelt und aus 96%-A. umkristallisiert. Schmelzpunkt war 207° der der Arabinoseverbindung.

Aus dem Filtrate wurde nach der Formaldehydmethode mit Äthylazetatausschüttelung nach Kap. VII die Fukose wiedergewonnen, die in 2 ccm W. gelöst, mittels 200 mg Phenylhydrazin niedergeschlagen wurde. Nach 24 St. wurde das Hydrazon mit W. und mit 30%-A. gewaschen und aus möglichst wenig 90%-A. umkristallisiert, Schmelzpunkt war 171—172° der der reinen Fukoseverbindung.

4. l-Arabinose und d-Glukose

Votoček und Vondraček[2]) haben eine Trennung ausgearbeitet:

0,3 g l-Arabinose + 0,3 g d-Glukose in Wasser wurden mit 0,6 g α-Methylphenylhydrazin und 0,6 ccm Eisessig behandelt. Nach 1 St. wurde ein Hydrazon als das der Arabinose identifiziert (siehe Schmelzpunkt auf S. 163). Das Filtrat wurde mit dem Fischer-

---

[1]) Bull. [4] **15**, 634—639.

[2]) E. Votoček u. R. Vondraček, Ü. d. Trennung bezw. Isolierung reduz. Zuckerarten. Ber. **37**, 3854 usw. (1904).

schen Hydrazingemische behandelt, wobei sich Glukosazon ausschied (Azetonbehandlung!).

Weiter können wir aus Kap. VI ableiten, daß ebenso dienen könnten: p-Bromphenyl-, α-Benzylphenyl-, Diphenyl-, m- und o-Nitrophenyl-, Benzoyl-, p-Tolyl-, p-Nitrophenylhydrazon und Phenylhydrazon.

Die folgenden Trennungen wurden ausgeführt:

a) Aus einem Gemische von 200 mg l-Arabinose und 200 mg d-Glukose wurde mit 500 mg α-Benzylphenylhydrazin die Arabinose niedergeschlagen und identifiziert (siehe Trennung a von Arabinose-Xylose). Auch Diphenylhydrazin bewährte sich.

Das von Alkohol befreite Filtrat wurde mit 400 mg salzs. Phenylhydrazin und 600 mg Natriumazetat im Wasserbade erhitzt; das Osazon wurde mit W. und mit Azeton gewaschen und aus 70%-A. umkristallisiert. Schmelzpunkt war 210° der der Glukoseverbindung. Arabinose stört nicht.

b) Mit demselben Gemische wurde für Arabinose wie bei a verfahren.

Das von Alkohol befreite Filtrat wurde mit 4 ccm Eisessig und 200 mg p-Nitrophenylhydrazin auf Osazon nach S. 225 verarbeitet. Schließlich wurde es aus Pyridinlösung mittels Ä. niedergeschlagen. Schmelzpunkt war 248° (252° wird verlangt), also wahrscheinlich die Glukoseverbindung. Arabinoseverbindung bleibt im Alkohol gelöst.

c) 200 mg l-Arabinose + 200 mg d-Glukose wurden mit 3 ccm 96%-A. und 400 mg o-Nitrophenylhydrazin zur völligen Lösung und Umsetzung erhitzt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon mit 96%-A. gewaschen und aus diesem umkristallisiert. Schmelzpunkt war 183°, also der der Arabinoseverbindung.

Das Filtrat wird mit 10 Tropfen Formalin nach Kap. VII behandelt usw. Die erhaltene Glukose kann entweder nach a als Phenylosazon oder nach b als p-Nitrophenylosazon identifiziert werden, oder wenn mindestens $^1/_2$ g Glukose vorliegt, als zuckersaures Silber nach S. 100.

d) In einem Gemisch aus 200 mg Arabinose und 200 mg d-Glukose in 6 ccm Eisessig wurde nach S. 225 die Glukose als p-Nitrophenylosazon niedergeschlagen usw., Schmelzpunkt 248°. Nach Pyridin-Ätherbehandlung wieder 248°. Weil kein einziges p-Nitrophenylosazon einen so hohen Schmelzpunkt aufweist

(außer der d-Fruktose 257°), ist Glukose wahrscheinlich (252° oder 257°). Wenn größere Mengen vorliegen, kann so oft aus Pyridin mit Äther behandelt werden, bis der richtige Schmelzpunkt erreicht ist.

Arabinose kann nicht mehr nachgewiesen werden.

e) Wenn die d-Glukose mittels Preßhefe bei 35° während 2 St. vergoren wird, kann nach Filtrieren, Eindampfung, Aufnahme in heißem 90%-A. usw. die Arabinose nach B. dieses Kapitels nachgewiesen werden. (Mit dem „Lohnsteinschen Apparate stets kontrollieren, ob alle Glukose vergoren ist, sonst die Gärung nach Filtrieren, Konzentrierung, Wasserzugabe, mit einer neuen Menge Hefe wiederholen!).

f) Wenn mindestens ½ g d-Glukose vorliegt, kann sie neben Arabinose direkt als zuckersaures Silber nach S. 100 nachgewiesen werden.

5. l-Arabinose und d-Mannose

a) Nach der Votoček-Vondračekschen Trennungsmethode (a. a. O.) wurden 200 mg Arabinose + 200 mg d-Mannose in 10 ccm W. gelöst, mit 400 mg Phenylhydrazin und 800 mg 25% Essigsäure gemischt. Bald kristallisierte ein Hydrazon aus, das nach 24 St. abgesogen und nach S. 150 umkristallisiert wurde. Nach noch einmaligem Umkristallisieren aus 60%-A., war der Schmelzpunkt 199° der der Mannoseverbindung.

Das Filtrat wurde mit 200 mg α-Methylphenylhydrazin behandelt. Nach einigen Stunden wurde ein Hydrazon aus 30%-A. umkristallisiert. Nach einmaliger Wiederholung war es farblos, und der Schmelzpunkt war 164—165° der der Arabinoseverbindung.

Wir können aus Kap. VI ableiten, daß weiter dienen könnten: α-Benzylphenyl-, Diphenyl-, Benzoyl- und p-Tolylhydrazon und Phenylosazon.

Die folgenden Trennungen wurden noch ausgeführt:

b) Aus einem Gemische aus 200 mg l-Arabinose und 200 mg d-Mannose in 6 ccm 75%-A. wurde die Arabinose nach S. 163 mit 500 mg α-Benzylphenylhydrazin in 24 St. niedergeschlagen. Nach zwei Umkristallisierungen aus 75%-A. war der Schmelzpunkt 173°, also der der Arabinoseverbindung.

Das eingedampfte Filtrat wurde mit 10 ccm W., 200 mg Phenylhydrazin und 400 mg 25%-Essigsäure, und weiter wie bei a behandelt. Nach zwei Umkristallisierungen des erhaltenen Hydrazons aus 60% A. war der Schmelzpunkt 198°, also der der Mannoseverbindung.

Eventuell noch etwas in Lösung gebliebene Arabinose stört nicht.

c) Das bei a erhaltene Filtrat kann nach Eindampfung auf Mannose-Osazon mittels 400 mg salzsaurem Phenylhydrazin und 600 mg Natriumazetat verarbeitet werden (siehe Trennung Arabinose-Glukose auf S. 245).

d) Statt α-Benzylphenyl- kann auch Diphenylhydrazin für Arabinose benutzt werden (S. 178).

Für Glukose wieder wie bei a und b.

e) 200 mg l-Arabinose + 200 mg d-Mannose in 5 ccm W. gelöst, wurden mit 400 mg Benzhydrazin bis zur Lösung geschüttelt. Nach 24 St. wurde das gesammelte Hydrazon mit 96%-A. gewaschen, und aus diesem umkristallisiert. Der Schmelzpunkt war 207°, der der Arabinoseverbindung.

Das Filtrat wurde wie bei a mit 200 mg Phenylhydrazin und 400 mg 25%-Essigsäure behandelt. Nach einigen Stunden wurde ein Hydrazon gesammelt usw. Schmelzpunkt war 199°, also der der Mannoseverbindung.

Eventuell noch etwas in Lösung gebliebene Arabinose stört nicht.

Ebenso kann die Mannose als Phenylosazon nach a identifiziert werden.

f) Aus einem Gemische von 200 mg der beiden Saccharide wurden beide nach S. 205 mit 400 mg p-Tolylhydrazin (aus Wasser umkristallisiert) niedergeschlagen usw. Die Hydrazone wurden mit 96%-A. gekocht; nach Umkristallisierung des Ungelöstgebliebenen aus 96%-A., schmolz das Hydrazon bei 190° bis 191°, war also die d-Mannoseverbindung.

Wenn unverhofft der Schmelzpunkt nicht erreicht wird, so ist die Umkristallisierung zu wiederholen, bis die Arabinoseverbindung völlig in die Mutterlauge übergegangen ist, und die reine Mannoseverbindung resultiert.

g) Wenn es erforderlich ist, so kann stets die allgemeine Benzaldehyd- oder Formaldehydmethode (Kap. VII) benutzt werden,

um das zweite Saccharid aus den Filtraten der Hydrazone des ersten Saccharids zu gewinnen.

h) Aus einem Gemische kann die d-Mannose mit gleichen Teilen Preßhefe bei 35° in 2 St. vergoren werden, und nach Filtration, Konzentrierung usw. die Arabinose gewonnen werden, und nach oben oder nach B. dieses Kapitels identifiziert werden (S. 238).

Siehe auch Bemerkung bei 4. e) auf S. 246.

6. l-Arabinose und d-Galaktose

Hilger und Rothenfusser (a. a. O.) haben zwei Trennungsweisen ausgearbeitet:

a) Nach dieser Methode verfahrend, wurden 200 mg l-Arabinose + 200 mg d-Galaktose in 6 ccm 75%-A. mit ½ g α-Benzylphenylhydrazin während 24 St. zur Einwirkung hingestellt. Nach zwei Umkristallisierungen des erhaltenen Hydrazons aus 75%-A. war der Schmelzpunkt 173—174°, der der Arabinoseverbindung.

Nach Behandlung des Filtrates mit ½ g 40% Formaldehyd (siehe Kap. VII), wurde das schließlich erhaltene Saccharid mit 200 mg W. und einer heißen Lösung von 250 mg β-Naphthylhydrazin (aus Wasser umkristallisiert, abgesogen und nicht weiter getrocknet) in 8 ccm 96%-A. behandelt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon gesammelt, einige Male aus 96%-A. umkristallisiert. Der Schmelzpunkt stieg nicht über 183°, während der Schmelzpunkt der reinen Galaktoseverbindung auf 189° liegt. Die letzte Identifizierung bleibt etwas unsicher, 1. weil der Schmelzpunkt 189° schwer zu erreichen ist (siehe S. 176), 2. weil möglich noch etwas in Lösung gebliebene, also hier beigemischte Arabinose gleichfalls das Hydrazon ausscheidet (Schmelzpunkt 174—175°). Vielleicht haben hier beide Faktoren gewirkt.

b) Nach Hilger und Rothenfusser (a. a. O.) wird d-Galaktose niedergeschlagen. Die in Vakuum eingedampfte Mutterlauge wird wieder mit Formaldehyd behandelt (mit Äthylazetatausschüttelung) und die Arabinose als α-Benzylphenylhydrazon identifiziert. Mit dieser Trennungsweise erhielt ich weniger gute Resultate, denn aus einem Gemische von 200 mg l-Arabinose und 200 mg d-Galaktose konnte ich in zwei Tagen nur wenig Galaktoseverbindung erhalten, die Trennung war also sehr unvollständig.

Immerhin ist die Arabinose im Filtrate nach H. und R. (a. a. O.) als α-Benzylphenylhydrazon zu identifizieren, weil in 75%-A. die Galaktoseverbindung nicht auskristallisiert.

c) Votoček und Vondraček (a. a. O.) sowie Maurenbrecher (a. a. O.) haben eine Trennungsweise gegeben:

Nach dieser Methode wurden 200 mg l-Arabinose und 200 mg d-Galaktose in 5 ccm W. mit 0,4 g Diphenylhydrazin und Alkohol zur klaren Lösung während 1 St. erhitzt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon abgesogen, das nach einigen Umkristallisierungen aus 96 %-A. bei 204—205° schmolz, also die Arabinoseverbindung darstellte. Das Filtrat wurde mit 200 mg α-Methylphenylhydrazin und 0,7 ccm 50 %-Essigsäure schwach erhitzt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon aus 30 %-A. umkristallisiert; der Schmelzpunkt war 189—190°, also der der Galaktoseverbindung.

Die Trennung ist sehr gut.

Immerhin bleibt die Möglichkeit bestehen, daß Arabinose-Diphenylhydrazon nicht völlig auskristallisiert, obschon die Neigung dazu bei reinen Substanzen nicht groß ist. In diesen Fällen gibt der in Lösung gebliebene Teil gleichfalls ein α-Methylphenylhydrazon (Schmelzpunkt 165°) neben der Galaktoseverbindung.

Aus Kap. VI sehen wir, daß weiter noch dienlich sein können: p-Bromphenyl-, Benzoyl- und o-Tolylhydrazon und Phenylosazon.

Die folgenden Trennungen wurden ausgeführt:

d) Aus einem Gemische von je 200 mg der beiden Saccharide in 6 ccm 75 %-A. wurde nach S. 167 die Arabinose mittels 900 mg α-Benzylphenylhydrazin als Hydrazon niedergeschlagen und identifiziert.

Aus dem vom Alkohol befreiten Filtrate kann die Galaktose mittels 400 mg salzs. Phenylhydrazin (farblos) und 600 mg Natriumazetat (siehe Trennung Arabinose-Glukose) als Osazon gewonnen werden (Schmelzpunkt 184°). Wir müssen aber im Auge behalten, daß dieses Osazon einen nicht ganz sicheren Schmelzpunkt aufweist, und besser in Azeton löslich ist als Glukosazon, besonders wenn die Osazone noch nicht rein vorliegen. Die Auswaschung mit Azeton bleibt nötig, um eventuell noch vorhandenes Arabinosazon fortzuschaffen; das Auswaschen mit Azeton soll jedenfalls schnell, wie immer, auf dem Saugfilterchen geschehen und erst gemacht werden, wenn das Osazon einige Male aus 30 oder 40 %-A. umkristallisiert worden ist.

e) Weiter kann die Arabinose aus wässeriger Lösung als Benzhydrazid nach S. 197 mittels 400 mg des Hydrazins nieder-

geschlagen werden. Das erhaltene Hydrazid der Arabinose schmilzt nach Umkristallisierung aus 96%-A. bei 207°.

Nach Behandlung mit 10 Tr. Formalin (Kap. VII) wird die Galaktose wiedergewonnen und als Osazon (siehe bei d) oder als o-Tolylhydrazon nach S. 206 identifiziert (wobei event. etwas noch anwesende Arabinose nicht stört) und als α-Methylphenylhydrazon (siehe c).

Besonders das o-Tolylhydrazon ist sehr geeignet, weil es spezifisch für Galaktose ist (Schmelzpunkt 176°).

f) d-Galaktose kann in dem Gemische als Schleimsäure nach S. 103 bestimmt werden. Arabinose ist dann nicht mehr nachweisbar.

7. l-Arabinose und d-Fruktose

Wir haben in Kap. VI gesehen, daß hierfür dienen könnten: α-Benzylphenyl-, α-Methylphenyl-, p-Bromphenyl-, Benzoyl-, Diphenyl-, β-Naphthyl-, p-Tolyl-, p-Brombenzoyl- und m-Nitrophenylhydrazon, und Phenyl-, p-Bromphenyl-, α-Methylphenyl- und p-Nitrophenylosazon.

Besonders sind für Arabinose geeignet: α-Benzylphenyl-, α-Methylphenyl-, Diphenyl- und Benzoylhydrazon (Benzhydrazid).

Folgende Trennungen wurden ausgeführt:

a) 200 mg Arabinose + 200 mg Fruktose in 6 ccm 75%-A. wurden mit 400 mg α-Benzylphenylhydrazin behandelt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon gesammelt, das nach Umkristallisierung aus 75%-A. bei 173° schmolz, also die Arabinoseverbindung.

Das eingedampfte Filtrat wurde mit 10 ccm W., 600 mg salzs. p-Bromphenylhydrazin und 1 g Natriumazetat während 2 St. im Wasserbade erhitzt. Nach 24 St. wurde ein Osazon mit W. und mit 90%-A. gewaschen und aus 90%-A. umkristallisiert. Schmelzpunkt 216°, also die Fruktoseverbindung.

b) Ein Gemisch aus 200 mg l-Arabinose und 200 mg d-Fruktose in 4 Tropfen W. wurden mit 6 ccm abs. A. und 400 mg p-Tolylhydrazin (aus Wasser umkristallisiert) während ¼ St. erhitzt. Nach 24 St. wurde nicht sehr viel Hydrazon mit 96%-A. gewaschen und aus diesem umkristallisiert. Schmelzpunkt war 160—161°, der der Arabinoseverbindung.

Im Filtrate konnte Fruktose, wie bei a angegeben, wieder als p-Bromphenylosazon mit Schmelzpunkt 215° nachgewiesen werden.

c) Arabinose wird nach a identifiziert und Fruktose wie bei a, jetzt aber als Osazon oder als p-Nitrophenylosazon (siehe Trennung Arabinose-Glukose).

d) Fruktose kann bei 35° mit Preßhefe in 2 St. vergoren werden (siehe 4e auf S. 246). Arabinose wie oben.

e) In einem Gemische von 200 mg Arabinose und 200 mg Fruktose wurde die Arabinose nach a identifiziert.

Das Filtrat wurde mit 500 mg α-Methylphenylhydrazin und 500 mg 50%-Essigsäure während 10 Min. erhitzt und dann der Alkohol verdampft. Die ölige Ausscheidung wurde abgetrennt, war aber in Eiswasser auch nach 24 St. nicht zur Kristallisation zu bringen. Sie wurde in Chloroform gelöst, mit wasserfreiem Natriumsulfat behandelt und nach Filtrierung mittels Petrol-Äthers niedergeschlagen. Das wurde zweimal wiederholt. Nach 24 St. war die ölige Ausscheidung in der Kälte fest geworden; der Schmelzpunkt konnte aber nach dem Umkristallisieren aus 10%-A. nicht höher als auf 140° gebracht werden.

Für die richtige Identifizierung von Fruktose ist, wie mehrmals betont, mindestens ½ g in Arbeit zu nehmen, damit Substanz genug anwesend ist, um mit Erfolg von viel Nebenprodukten befreit werden zu können.

8. Xylose und Rhamnose

Aus Kap. VI erhellt, daß hierfür dienen könnten, neben der Xylonsäurereaktion, Benzhydrazon in Alkohol, m-Nitrophenyl-, p-Brombenzoyl-, p-Tolylhydrazon und p-Bromphenylosazon.

Das Benzhydrazin in Alkohol erwies sich aber als ungeeignet, weil aus einem Gemische von 200 mg Rhamnose und 200 mg Xylose keine Ausscheidung des Hydrazons erfolgte.

Die folgenden Trennungen wurden ausgeführt:

a) Aus einem Gemische von 200 mg Xylose und 200 mg Rhamnose wurde mittels 400 mg p-Tolylhydrazin (aus Wasser umkristallisiert) und 5 ccm A. nach S. 205 Rhamnose niedergeschlagen und identifiziert.

Aus dem Filtrate wurde nach der Formaldehydmethode mit 16 Tropfen 40%-Formaldehyd nach Kap. VII die Xylose wiedergewonnen und nach der Xylonsäurereaktion (S. 58) identifiziert.

Wenn mehr Xylose vorliegt, kann auch m-Nitrophenylhydrazin nach S. 184 herangezogen werden.

b) 200 mg Xylose + 200 mg Rhamnose wurden mit 5 ccm 96 %-A. und 400 mg p-Brombenzhydrazid während 1/2 St. erhitzt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon abgesogen, mit wenig 96 %-A. gewaschen und aus diesem umkristallisiert. 1. Schmelzpunkt 189°, 2. 190°, also die Rhamnoseverbindung.

Das Filtrat wurde mit 400 mg 40 % - Formaldehyd nach Kap. VII behandelt und schließlich sirupöse Xylose gewonnen. Identifizierung erfolgt nach a.

c) Aus einem Gemische von 200 mg Xylose und 200 mg Rhamnose kann nach S. 174 Rhamnose als β-Naphthylhydrazon niedergeschlagen und identifiziert werden.

Das Filtrat wird wieder wie bei a für Xylose behandelt.

Die Empfindlichkeit für die Ausscheidung von β-Naphthylhydrazone in Gemischen ist nicht groß (siehe bei A. dieses Kap.).

d) In einem Gemische von 200 mg Xylose und 200 mg Rhamnose wurde Xylose nach der Xylonsäurereaktion nachgewiesen (S. 58). Bei erster Kristallisierung entstanden nur Nädelchen. Nach Abwaschung mit 95 %-A. auf Saugfilterchen, Lösung in 2 ccm W., Filtrierung und Mischung mit gleichem Volumen abs. A., entstanden die typischen bootförmigen Kristalle in einigen Stunden.

Die Identifizierung der Rhamnose gelingt in diesem Versuch nicht mehr.

e) Ein Gemisch aus 200 mg Xylose und 200 mg Rhamnose wurde während 2 St. mit 10 ccm W., 1 g salzs. p-Bromphenylhydrazin und 1,5 g Natriumazetat erhitzt. Nach 24 St. wurde ein Osazon mit W. und mit 90 %-A. gewaschen und aus diesem umkristallisiert. Schmelzpunkt war 217—218°, der der Rhamnoseverbindung.

Xylose ist in diesem Versuche nicht mehr nachweisbar.

9. Xylose und Fukose

Aus Kap. VI erhellt, daß hierfür dienen könnten: Phenyl-, p-Bromphenyl-, α-Methylphenyl-, Diphenyl-, β-Naphthyl-, o-Nitrophenyl-, p-Tolyl-, p-Brombenzoyl- und Benzoylhydrazon in Alkohol (Benzhydrazid); weiter die Xylonsäurereaktion.

Folgende Trennungen wurden ausgeführt:

a) 200 mg Xylose + 200 mg Fukose wurden mit 5 ccm 96 %-A. und 400 mg p-Tolylhydrazin (aus W. umkristallisiert) erhitzt, bis alles gelöst war. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon

mit Alkohol gewaschen und aus diesem umkristallisiert. Schmelzpunkt 168°. Nach einmaliger Umkristallisierung aus W. 169°, also die Fukoseverbindung.

Das Filtrat wurde mit 8 Tr. 40%-Formaldehyd nach Kap. VII behandelt und die erhaltene Xylose nach der Xylonsäurereaktion (S. 58) behandelt. Nach 24 St. kleine, nicht typische Kristalle. Nach Absaugen, Lösen in 1,5 ccm W. und Mischen mit gleichem Volumen abs. A., waren in 24 St. schöne, bootförmige Kristalle erhalten.

b) 200 mg Xylose + 200 mg Fukose wurden mit 5 ccm 96%-A. und 400 mg Benzhydrazin bis zur Lösung erhitzt. Nach 2 × 24 St. hatte sich noch wenig Hydrazon abgeschieden. Nach Schütteln und Abkühlen vermehrten sich die Kristalle und nach weiteren 24 St. wurde ziemlich viel Hydrazon gesammelt und aus 95%-A. umkristallisiert. Schmelzpunkt war 196—197°, also der der Fukoseverbindung.

Das Filtrat wurde, wie bei a angegeben, behandelt und nach der Xylonsäurereaktion untersucht. Nach 24 St. hatten sich kleine, nicht typische Kristalle entwickelt. Nach Absaugen, Lösen in 1 ccm W., Mischen mit 1 ccm abs. A. entstanden keine Kristalle, nach Hinzugabe von noch 1 ccm A. nichts. Die Flüssigkeit wurde völlig verdampft, in 2 Tr. W. aufgenommen und auf einem Uhrglase mit 3 bis 4 Tr. abs. A. gemischt. Bald entstanden kleine, typische bootförmige Kristalle.

Immerhin gestaltete sich hier der Xylosenachweis viel schwieriger wie bei a.

c) Für Fukose kann vorteilhaft: p-Bromphenyl- (S. 158), α-Methylphenyl- (S. 165) und Diphenylhydrazin (S. 179) benutzt werden.

Xylose wie bei a.

d) Im Gemische von a kann die Xylose direkt mit der Xylonsäurereaktion (S. 58) nachgewiesen werden.

Fukose bei diesem Versuche nicht mehr.

10. Xylose und d-Glukose

Aus Kap. VI erhellt, daß hierfür dienen könnten: p- und m-Nitrophenyl-, p-Brombenzoylhydrazon und Phenyl-, p-Bromphenyl- und p-Nitrophenylosazon. Weiter die Xylonsäure- und die Zuckersäurereaktion.

Die folgenden Trennungen wurden ausgeführt:

a) Aus einem Gemische von 200 mg Xylose und 200 mg d-Glukose in 5 ccm 96%-A. wurde mit 400 mg p-Nitrophenylhydrazin (nach S. 187) ein Hydrazon ausgeschieden, das nach Auswaschen mit A. und Umkristallisieren aus wenig A. bei 184° schmolz (Abkühlung ist manchmal erforderlich). Nach zweimaligem Umkristallisieren Schmelzpunkt 188°, der der Glukoseverbindung (Empfindlichkeit siehe dieses Kap. A).

Das Filtrat wurde nach der Formaldehydmethode (Kap. VII) mit 8 Tr. 40%-Formaldehyd behandelt und die gewonnene Xylose glatt nach der Xylonsäurereaktion nachgewiesen (nach S. 58).

b) Aus dem Gemische kann Xylose als m-Nitrophenylhydrazon (siehe Trennung Xylose-Rhamnose) identifiziert werden. Wie aus diesem Kapitel bei A. erhellt, ist die Reaktion keine empfindliche. Wenn aber die Reaktion negativ verläuft, so kann Glukose noch als Phenylosazon nach S. 213 identifiziert werden, wenn das Osazon mit Azeton gewaschen wird.

c) Aus einem Gemisch von 200 mg Xylose und 200 mg Glukose in 5 ccm 96%-A. konnte mit 400 mg p-Brombenzhydrazin nach S. 199 zwar ein Hydrazon erhalten werden, aber die Menge war zu gering, um auf Glukose schließen zu können; der Schmelzpunkt war 20° zu niedrig.

Xylose konnte wie bei a identifiziert werden.

d) Im obengenannten Gemische ist die Xylose direkt mit der Xylonsäurereaktion gut nachweisbar. Glukose im gleichen Versuche nicht.

e) Wenn im Gemische wenigstens 500 mg Glukose vorliegen, so können sie nach der Zuckersäurereaktion (S. 100) nachgewiesen werden.

Xylose im gleichen Versuche nicht mehr.

f) Aus einem Gemische von 200 mg Xylose + 200 mg Glukose können durch einstündiges Erhitzen mit 10 ccm W., 800 mg salzs. Phenylhydrazin und 1,2 g Natriumazetat beide Osazone erhalten werden, welche nach Umkristallisierung aus 30 oder 40%-A., mittels Azeton getrennt werden. Glukosazon bleibt zurück. Umkristallisierung aus 70%-A., Schmelzpunkt 210°.

g) Aus einem Gemische von 200 mg jeden Saccharids kann mittels 1,2 g salzs. p-Bromphenylhydrazin und 1,6 g Natriumazetat in 10 ccm W. durch zweistündiges Erhitzen das Osazon der Glukose erhalten werden (siehe Trennung Xylose-Rhamnose) mit Schmelzpunkt 215—216°.

Xylose ist dann nicht mehr nachweisbar.

h) Aus dem Gemische von 200 mg jeden Saccharids in 6 ccm Eisessig, kann mittels 800 mg p-Nitrophenylhydrazin nach S. 225 die Glukose als Osazon niedergeschlagen werden (siehe Trennung Arabinose-Glukose).

Xylose ist dann nicht mehr nachweisbar.

i) Aus dem Gemische von 200 mg jedes Saccharids in 5 ccm W. wird mittels $^1/_2$ g Preßhefe die Glukose bei 35° in 2 St. vergoren. Nach Filtration, Eindampfen, Auskochen mit 90%-A. usw. wird Xylose nach der Xylonsäurereaktion nachgewiesen (siehe S. 58) und vorige Trennungen, sowie die Bemerkung bei 4e auf S. 246).

11. Xylose und d-Mannose

Aus Kap. VI erhellt, daß hierfür dienen könnten: Phenyl-, p-Bromphenyl-, α-Methylphenyl-, p- und o-Nitrophenyl-, p-Tolyl-, p-Brombenzoylhydrazon (Benzhydrazid) und Phenylosazon. Weiter die Xylonsäurereaktion. An erster Stelle kommen für Mannose 1, 2, 6 und 3 in Betracht.

Die folgenden Trennungen wurden ausgeführt:

a) Aus 200 mg Xylose + 200 mg Mannose in 5 ccm W. wurde mittels 400 mg Phenylhydrazin und 800 mg 25%-Essigsäure in einigen Stunden, wenn nötig, in längerer Zeit, die Mannose niedergeschlagen und einige Male aus 60%-A. umkristallisiert; das farblose Mannose-Phenylhydrazon schmolz bei 198—199°.

Das Filtrat wurde unter Hinzufügung von Alkohol nach der Benzaldehydmethode (Kap. VII) behandelt und die Xylose nach der Xylonsäurereaktion nachgewiesen (siehe vorige Trennungen).

b) Anstatt Phenylhydrazin kann 400 mg aus W. umkristallisiertes p-Tolylhydrazin in 5 ccm 96%-A. nach S. 205 benutzt werden, sowie 400 mg p-Bromphenylhydrazin nach S. 159 für Mannose, wobei die Xylose nach a identifiziert wird.

c) Das p-Brombenzhydrazid nach S. 200 ist weniger geeignet, weil der Schmelzpunkt der Mannoseverbindung nicht über 191° hinausging (reine Verbindung 198°).

d) Aus dem Gemische von 200 mg jeden Saccharids in 5 ccm A. kann die Mannose als o-Nitrophenylhydrazon nach S. 189 mit 400 mg des Hydrazins niedergeschlagen werden. Xylose kann wieder nach der Xylonsäurereaktion nachgewiesen werden (siehe vorige Trennungen).

Mittels 400 mg p-Nitrophenylhydrazin nach S. 183 u. 188 werden beide niedergeschlagen. Bei der Umkristallisierung aus 95 %-A. verschwindet die Xyloseverbindung. Es wurde denn auch ein Hydrazon mit einem Schmelzpunkt 201° dem der Mannoseverbindung erhalten.

e) Wie bei Trennung f von Xylose-Glukose kann hier das d-Mannosazon = d-Glukosazon erhalten werden (Schmelzpunkt 210°).

f) Xylose wird direkt nach der Xylonsäurereaktion nachgewiesen, wie bei Trennung d von Xylose-Glukose.

g) Xylose wird nach Vergärung der d-Mannose, wie bei Trennung i, von Xylose-Glukose nachgewiesen (siehe auch 4 e der Trennung Arabinose-Glukose auf S. 246).

12. Xylose und d-Galaktose

Aus Kap. VI erhellt, daß hierfür dienen könnten: o-Tolyl-, α-Methylphenyl-, p-Tolyl-, p-Nitrophenyl- und p-Brombenzoylhydrazon; weiter: Phenylosazon, die Schleimsäure- und die Xylonsäurereaktion.

Die folgenden Trennungen wurden ausgeführt:

a) Aus einem Gemische von 200 mg Xylose und 200 mg d-Galaktose in 400 mg W. konnte die Galaktose durch Erhitzen mit 400 mg o-Tolylhydrazin (aus wenig Wasser umkristallisiert) und 6 ccm abs. A. während ¼ St., in 24 St. zur Abscheidung gebracht werden; nach Umkristallisierung aus 96 %-A. war der Schmelzpunkt 175°.

Das Filtrat wurde nach der Formaldehydmethode (siehe Trennung a Xylose-Rhamnose S. 251) behandelt; die schließlich gewonnene Xylose wurde nach der Xylonsäurereaktion identifiziert, wobei zuerst garbenförmig gruppierte Kristalle erhalten wurden. Nach Absaugen, Lösen in 1,5 ccm W. und Mischen mit 1,5 ccm abs. A. wurden die bootförmigen Kristalle erhalten (S. 58).

b) Ebenso kann die Galaktose als *p-Tolylhydrazon*, wie bei a, identifiziert werden (Schmelzpunkt 168°), und Xylose wieder wie bei a.

c) Aus 200 mg Xylose + 200 mg Galaktose in 3 ccm W. konnte durch Erhitzung mit 400 mg α-Methylphenylhydrazin und Alkohol zur klaren Lösung, während ½ St., die Galaktose in 24 St. abgeschieden werden. Nach Absaugen, Umkristallisieren wie nach S. 166, wurde das Hydrazon mit Schmelzpunkt 190° identifiziert.

Xylose wieder wie bei a.

d) 200 mg Xylose + 200 mg Galaktose in 8 Tr. Wasser wurden mit 400 mg p-Nitrophenylhydrazin und 5 ccm abs. A. nach S. 182 erhitzt. Nach 24 St. wurde die noch klare Lösung durch Impfung mit der d-Galaktoseverbindung zum Kristallisieren gebracht. Nach 24 St. wurde das Hydrazon aus 95 %-A. umkristallisiert und als die Galaktoseverbindung mit Schmelzpunkt 194° identifiziert.

Xylose wurde wie bei a identifiziert (Äthylazetat statt Äther).

Wie aus A. dieses Kapitels auch schon ersichtlich, ist bei den p-Nitrophenylhydrazonen Vorsicht nötig.

e) Aus 200 mg Xylose + 200 mg Galaktose in 8 Tr. W. wurde durch Erhitzen mit 500 mg p-Brombenzhydrazin in 5 ccm abs. A. nach S. 200 die Galaktose niedergeschlagen, d. h. nach 24 St. war die Lösung noch fast klar, konnte aber durch Schütteln und Abkühlen in 24 St. zur Kristallisation gebracht werden. Nach Abwaschung mit abs. A. wurde mit zur völligen Lösung unzureichender Menge abs. A. gekocht. Nach 24 St. wurde diese Galaktoseverbindung mit Schmelzpunkt 211—212° identifiziert.

Xylose wurde wieder wie bei a identifiziert (auch hier Äthylazetat statt Äther).

f) Beide werden in ihr Osazon verwandelt, wie bei f von Trennung Xylose-Glukose angegeben worden ist und mittels Azeton die Xyloseverbindung entfernt. Möglichst wenig Azeton, weil das Galaktosazon weniger schwer in Azeton löslich ist wie das Glukosazon.

g) In einem Gemische aus 200 mg Xylose und 200 mg Galaktose kann die Xylose direkt nach der Xylonsäurereaktion (S. 58) nachgewiesen werden. Galaktose ist dann nicht mehr nachweisbar.

h) Galaktose kann nach der Schleimsäurereaktion nachgewiesen werden.

Xylose ist dann nicht mehr nachweisbar.

13. Xylose und d-Fruktose

Aus Kap. VI erhellt, daß hierfür dienen könnten: p-, m-, o-Nitrophenylhydrazon, p-Nitrobenzhydrazid, Phenyl-, p-Bromphenyl-, α-Methylphenyl-, p-Nitrophenyl- und Benzylphenylosazon; weiter die Xylonsäurereaktion.

Folgende Trennungen wurden ausgeführt:

a) Ein Gemisch von 200 mg Xylose und 200 mg Fruktose wurde mit 3 ccm 95 %-A. und 400 mg o-Nitrophenylhydrazin

erhitzt (S. 192). Nach 24 St. wurde das gesammelte Hydrazon einige Male aus 95%-A. umkristallisiert. Es war die Fruktoseverbindung mit Schmelzpunkt 157°.

Xylose wurde wie bei a der Trennung Xylose-Galaktose identifiziert (Äthylazetat statt Äther). Zweimal mußte die erhaltene Verbindung in Wasser gelöst und mittels Alkohol niedergeschlagen werden, um die bootförmigen Kristalle zu erhalten.

b) Xylose als p-Nitrobenzhydrazid abzuscheiden (nach S. 202) gelang nicht in reinem Zustande; es wurde nämlich eine Xyloseverbindung erhalten, welche bei 161° anstatt bei 154—155° schmolz, wahrscheinlich verursacht durch die Beimischung von etwas freiem Hydrazin (Schmelzpunkt 211—212°), das ungeachtet zweier Umkristallisationen aus 95%-A. nicht völlig entfernt wurde.

Die Fruktose kann im Filtrate als Osazon (S. 214) oder als p-Bromphenylosazon (S. 217, mißlingt öfter durch Gelatinierung) oder als α-Methylphenylosazon (S. 222, wenn mehr als 200 mg Fruktose vorliegt) nachgewiesen werden.

Ich wählte hier als Beispiel das Phenylosazon (siehe f der Trennung Xylose-Glukose), nach Formaldehydbehandlung mit 8 Tr. 40%-Formaldehyd (Kap. VII). Das Osazon schmolz bei 210°, also das Fruktosazon = Glukosazon.

Der Nachweis der Xylose gelang also nicht.

c) Die Trennung mittels p-Nitrophenylhydrazin gelang wider Erwarten nicht, weil stets ein Zwischenschmelzpunkt aufgefunden wurde.

d) Aus einem Gemische von 200 mg Xylose und 200 mg Fruktose konnte nach S. 226 die Fruktose als p-Nitrophenylosazon abgeschieden werden, obschon der Schmelzpunkt bei 246° stehen blieb und 252° nicht erreichte. Die Identifizierung verlief also nicht ganz sicher.

Xylose ist nicht mehr nachweisbar.

e) Xylose kann direkt nach der Xylonsäurereaktion (S. 58) nachgewiesen werden. Fruktose ist dann nicht mehr nachweisbar.

f) Fruktose kann vergoren werden, Xylose bleibt (siehe i der Trennung Xylose-Glukose) und 4 e der Trennung Arabinose-Glukose auf S. 246).

g) Beide können als Phenylosazon niedergeschlagen und mittels Azeton getrennt werden. Fruktosazon = Glukosazon bleibt zurück (siehe f der Trennung Xylose-Glukose).

h) Wenn mehr als 200 mg Fruktose vorliegen, können sie als *α-Methylphenylosazon* nach S. 222 identifiziert werden.

Xylose ist dann nicht mehr nachweisbar.

i) Fruktose kann als p-Bromphenylosazon nach S. 219 identifiziert werden, nach Umkristallisierung aus 90%-A. Bei Gelatinierung mißlingt der Nachweis meistens.

Xylose ist nicht mehr nachweisbar.

14. Rhamnose und Fukose

Aus Kap. VI erhellt, daß hierfür dienen könnten: Phenyl-, p-Bromphenyl-, Diphenylhydrazon und p-Bromphenylosazon.

Die folgenden Trennungen wurden ausgeführt:

a) 200 mg Rhamnose + 200 mg Fukose in 5 ccm W. wurden mit 400 mg p-Bromphenylhydrazin in 5 ccm W. + 1,4 g 50%-Essigsäure behandelt und filtriert. Bald kristallisierte ein Hydrazon. Nach 24 St. wurde es mit W., abs. A. und Ä. abgewaschen und aus 30%-A. umkristallisiert. Schmelzpunkt 175°, nach einmaliger Umkristallisierung aus 96%-A., Schmelzpunkt 178°, also die Fukoseverbindung.

Das Filtrat wurde während 2 St. mit 600 mg salzsaurem p-Bromphenylhydrazin und 750 mg Natriumazetat in 10 ccm W. erhitzt. Nach Abkühlung wurde das Osazon abgesogen, mit W. und mit 90%-A. gewaschen und aus diesem umkristallisiert. Schmelzpunkt war 218°, der der Rhamnoseverbindung.

b) Aus dem Gemische wie bei a wurde in 3 ccm W. mit 400 mg Diphenylhydrazin und A. zur klaren Lösung, ein Hydrazon niedergeschlagen, das bei Schütteln der Flüssigkeit entstand. Nach Abwaschung mit W. und 96%-A. war der Schmelzpunkt nach Umkristallisierung aus 96%-A. 197—198°, also der der Fukoseverbindung.

Das Filtrat, wie bei a behandelt, gab jedoch wenig Rhamnoseverbindung.

Daher ist die Trennung b weniger gut als a.

15. Rhamnose und d-Glukose

Aus Kap. VI erhellt, daß hierfür dienen könnten: p-Tolylhydrazon, Phenylosazon und weiter die Zuckersäurereaktion.

Die folgenden Trennungen wurden ausgeführt:

a) Ein Gemisch von 200 mg Rhamnose und 200 mg Glukose wurde mit 400 mg aus Wasser umkristallisiertem p-Tolylhydrazin

und 5 ccm 96%-A. zur völligen Lösung erhitzt. Nach 24 St. wurde wenig Hydrazon aus 96% A. umkristallisiert. Schmelzpunkt war 166°, der der Rhamnoseverbindung.

Das vom Alkohol befreite Filtrat wurde mit W., 400 mg salzs. Phenylhydrazin und 600 mg Natriumazetat erhitzt. Das Osazon wurde mit W. und mit Azeton gewaschen und aus 70%-A. umkristallisiert. Schmelzpunkt war 205°, also wohl als der der Glukoseverbindung aufzufassen.

b) Aus dem Gemische kann, wie bei i der Trennung Xylose-Glukose und 4e der Trennung Arabinose-Glukose, die Glukose vergoren werden usw. und die Rhamnose wie bei a oder als p-Bromphenylosazon (S. 217) nachgewiesen werden.

c) Beide Saccharide können wie bei f der Trennung Xylose-Glukose als Phenylosazone erhalten und wie dort getrennt werden. Glukosazon bleibt zurück usw.

d) Wenn mindestens 1/2 g Glukose im Gemisch vorliegt, kann sie als zuckersaures Silber nachgewiesen werden (S. 100).

Rhamnose ist dann nicht mehr nachweisbar.

16. Rhamnose und d-Mannose

Aus Kap. VI erhellt, daß hierfür dienen könnten: Phenyl-, p-Bromphenyl-, α-Methylphenyl-, m-Nitrophenyl-, o-Nitrophenyl-, o-Nitrobenzoylhydrazon und Phenylosazon.

Die folgenden Trennungen wurden ausgeführt:

a) 200 mg Rhamnose + 200 mg Mannose in 5 ccm W. wurden mit 400 mg Phenylhydrazin kurze Zeit erhitzt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon mit abs. A. gewaschen, aus 60%-A., dann aus W. umkristallisiert. Schmelzpunkt war 199°, der der Mannoseverbindung.

Das Filtrat wurde nach Kap. VII mit Benzaldehyd behandelt und schließlich die gewonnene Rhamnose in W. mittels Preßhefe von event. noch anwesender Mannose befreit und Rhamnose nach S. 217 mit 400 mg salzs. p-Bromphenylhydrazin und 600 mg Natriumazetat niedergeschlagen. Aus 90%-A. umkristallisiert, war der Schmelzpunkt 217—218°, also der der Rhamnoseverbindung.

b) In derselben Weise wie bei a, aber etwas weniger empfindlich, kann Mannose als α-Methylphenylhydrazon nach S. 165, oder als p-Bromphenylhydrazon nach S. 159 identifiziert werden.

Rhamnose wieder wie bei a nach Behandlung des Filtrates mit 10 Tr. 40%-Formaldehyd nach Kap. VII.

c) Die Bildung und Trennung beider Phenylosazone geschieht wie bei h von Trennung Xylose-Glukose.

d) Die Vergärung der Mannose usw. geschieht wie bei i der Trennung Xylose-Glukose und 4 e der Trennung Arabinose-Glukose.

e) 200 mg Rhamnose + 200 mg Mannose wurden mit 400 mg o-Nitrophenylhydrazin in 3 ccm 96%-A. zur völligen Lösung erhitzt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon gesammelt und aus 96%-A. umkristallisiert. Schmelzpunkt 170—171° der Mannoseverbindung.

Die Rhamnose, nach Formaldehydbehandlung, ohne weiteres als p-Bromphenylosazon nachzuweisen gelang nicht, weil noch etwas Mannose in Lösung geblieben war. Es wurde nämlich ein dem Übergang in Osazon hartnäckig Widerstand bietendes p-Bromphenylhydrazon der Mannose zwischen dem Osazon der Rhamnose gebildet.

Es ist daher erforderlich, die mittels 8 Tr. Formalin usw. wiedergewonnene, völlig von Formaldehyd befreite Rhamnose wie bei a, von Mannose zu befreien, und wie dort weiter zu behandeln. Siehe weiter die Bemerkung bei e der Trennung Arabinose-Glukose.

f) Statt ortho- von e kann m-Nitrophenylhydrazin genommen werden.

g) Mit o-Nitrobenzoylhydrazin konnte keine gute Identifizierung erfolgen; die Rhamnoseverbindung schmolz um etwa 15° zu niedrig.

17. Rhamnose und d-Galaktose

Aus Kap. VI erhellt, daß hierfür folgende dienen könnten: α-Methylphenyl-, m-Nitrophenyl-, o-Tolyl-, o-Nitrobenzhydrazon, Phenyl- und p-Bromphenylosazon; weiter die Schleimsäurereaktion.

Das o-Nitrobenzhydrazin führte aber nicht zu einem positiven Resultat.

Die folgenden Trennungen wurden ausgeführt:

a) 200 mg Rhamnose + 200 mg Galaktose in 400 mg W. wurden mit 500 mg o-Tolylhydrazin (aus wenig Wasser umkrist., abgesogen und nicht getrocknet) und 5 ccm abs. A. zur völligen Lösung gebracht. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon mit 96%-A. gewaschen und aus diesem umkristallisiert. Schmelzpunkt war 176° der Galaktoseverbindung.

Die Rhamnose wurde wie bei a der Trennung Rhamnose-Mannose, aber ohne vorangehende Gärung als p-Bromphenylosazon mit Schmelzpunkt 216° identifiziert (theor. 218°).

b) Votoček und Vondraček (a. a. O.) schlugen die Galaktose mittels α-Methylphenylhydrazin nieder, dampften das Filtrat ein usw., und gewannen die Rhamnoseverbindung mit richtigem Schmelzpunkt.

Nach dieser Trennungsmethode wurden 200 mg jeden Saccharids mit 400 mg α-Methylphenylhydrazin, 5 ccm W. und Alkohol zur klaren Lösung behandelt. Die Galaktoseverbindung mit Schmelzpunkt 191°, nach Umkristallisierung aus 30%-A., konnte leicht erhalten werden. Das Hydrazon wurde aber nicht nach 10 St., wie V. und V. angeben, sondern nach 24 St. gesammelt, wie das oft zur größten Ausbeute erforderlich ist. Es gelang mir nicht, die Rhamnoseverbindung völlig rein zu erhalten. Es ist daher doch erforderlich, die Galaktoseverbindung nach wenigen Stunden zu sammeln; wenn es aber dabei nicht gelingt, sie völlig niederzuschlagen, so gelingt der Rhamnosenachweis nicht mehr.

c) Wie bei b, wurde aus dem Gemisch das Galaktose-α-Methylphenylhydrazon nach 24 St. erhalten. Das Filtrat wurde mit 8 Tr. 40%-Formaldehyd nach Kap. VII behandelt und schließlich die gewonnene Rhamnose nach a als p-Bromphenylosazon nachgewiesen.

d) Beide können als Osazon erhalten und mittels Azeton getrennt werden (siehe f der Trennung Xylose-Galaktose).

f) Galaktose kann als Schleimsäure nach S. 103 nachgewiesen werden. Rhamnose ist dann nicht mehr nachweisbar.

18. Rhamnose und d-Fruktose

Aus Kap. VI erhellt, daß hierfür dienen könnten: p-Tolyl-, β-Naphthyl-, o-Nitrophenylhydrazon, Phenyl-, α-Methylphenyl-, Benzylphenyl- und p-Nitrophenylosazon.

Die folgenden Trennungen wurden ausgeführt:

a) 200 mg Rhamnose + 200 mg d-Fruktose wurden mit 3 ccm 96%-A. und 400 mg o-Nitrophenylhydrazin zur völligen Lösung erhitzt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon mit 96%-A. gewaschen und aus diesem umkristallisiert. Schmelzpunkt war 157° der der Fruktoseverbindung.

Rhamnose ist ohne weiteres im Filtrate nicht nachweisbar. Das Filtrat wurde mit 8 Tr. 40%-Formaldehyd nach Kap. VII be-

handelt, und die schließlich gewonnene Rhamnose mittels 100 mg Preßhefe bei 35° während 2 St. von Spuren Fruktose befreit (siehe Bemerkung 4 e der Trennung Arabinose-Glukose).

Nach Filtration kann die Rhamnose als p-Bromphenylosazon nach S. 219 oder als Phenylosazon nach S. 213 identifiziert werden und wie bei B. dieses Kap. S. 239.

b) Fruktose kann wie bei i) der Trennung Xylose-Glukose und 4 e) der Trennung Arab.-Glukose vergoren und die Rhamnose wie bei a) identifiziert werden.

c) Beide können als Osazon nach f) der Trennung Xylose-Glukose erhalten und mittels Azeton getrennt werden. Nur Fruktosazon = Glukosazon bleibt zurück.

d) Aus einem Gemische von 500 mg Fruktose und 200 mg Rhamnose in 3 ccm W., 1,4 g α-Methylphenylhydrazin + Alkohol zur klaren Lösung, und 1 g 50% Essigsäure wurde nach etwa 10 Min. Erwärmens im Wasserbade ein öliges Produkt erhalten, das aber in 2 Tagen in der Kälte noch nicht kristallisierte. Es trat hier also Störung ein.

e) Aus 200 mg Rhamnose + 200 mg Fruktose konnte nach S. 205 mit p-Tolylhydrazin in 2,5 Tagen nur sehr wenig Rhamnoseverbindung erhalten werden.

Immerhin gelingt der Fruktosenachweis im Filtrate als Osazon nach S. 213 mit Acetonabwaschung.

19. Fukose und d-Glukose

Aus Kap. VI erhellt, daß hierfür dienen könnten: p-Bromphenyl-, α-Methylphenyl-, Diphenyl-, p-Tolyl-, o- und m-Nitrophenylhydrazon, Phenyl- und p-Bromphenylosazon; weiter die Zuckersäurereaktion.

Die folgenden Trennungen wurden ausgeführt:

a) 200 mg Fukose + 200 mg Glukose wurden mit 400 mg p-Tolylhydrazin (aus Wasser umkristallisiert, abgesogen und nicht getrocknet) und 5 ccm 96%-A. erhitzt, bis völlige Lösung eintrat. Bald kristallisierte ein Hydrazon, das nach einigen Stunden mit 96%-A. abgewaschen, und aus diesem umkristallisiert wurde. Schmelzpunkt war 169°, der der Fukoseverbindung.

Das Filtrat wurde mit 8 Tr. 40% Formaldehyd nach Kap. VII behandelt, und die schließlich gewonnene Glukose mittels 400 mg salzs. Phenylhydrazin, 600 mg Natriumazetat und W. in das Osazon verwandelt. Nach Waschung mit W., Umkristall. aus 30%-A.,

Waschung mit Azeton, und Umkristallis. aus 70%-A. war der Schmelzpunkt der Glukoseverbindung 210°.

b) 200 mg Fukose und 200 mg Glukose in 5 ccm W. wurden mit 400 mg α-Methylphenylhydrazin und Alkohol zur klaren Lösung gebracht. Nach 24 Stunden wurde ein Hydrazon mit W., abs. A. und Ä. gewaschen und aus 30%-A. umkristallisiert. Schmelzpunkt war 181° der der Fukoseverbindung. Aus dem Filtrate gelang es zwar, nach der Formaldehydbehandlung (Kap. VII) die gewonnene Glukose durch zweistündiges Erhitzen mit 600 mg salzs. p-Bromphenylhydrazin, 750 mg Natriumazetat und 5 ccm W., in das Osazon zu verwandeln, es war aber geleeartig und konnte aus 90%-A. nicht kristallinisch erhalten werden.

Also wird sie besser als Osazon nach a) identifiziert.

c) Fukose kann mittels 400 mg p-Bromphenylhydrazin in essigsaurer Lösung nach S. 158 identifiziert werden.

Glukose wieder als Phenylosazon, wie bei a).

d) Fukose kann als Diphenylhydrazon, wie bei b) für α-Methyl- beschrieben, identifiziert werden. Glukose wieder als Osazon wie bei a).

e) Wenn mindestens 1/2 g Glukose vorliegt, kann sie nach S. 100 als zuckersaures Silber identifiziert werden.

Fukose ist dann nicht mehr nachweisbar.

f) Beide können als Phenylosazon niedergeschlagen, und wie bei e) der Trennung Xylose-Glukose behandelt werden. Glukosazon bleibt zurück.

g) Glukose kann nach i) der Trennung Xylose-Glukose vergoren werden (siehe Bemerkung bei 4 e der Trennung Arabinose-Glukose). Fukose bleibt.

20. Fukose und d-Mannose

Aus Kap. VI erhellt, daß hierfür dienen könnten: Phenyl-, Diphenylhydrazon und Phenylosazon.

Folgende Trennungen wurden ausgeführt:

a) 200 mg Fukose + 200 mg Mannose in 3 ccm W. wurden mit 400 mg gereinigtem Diphenylhydrazin und Alkohol zur klaren Lösung gebracht. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon mit W. und mit 96%-A. gewaschen, und aus diesem umkristallisiert. Schmelzpunkt war 197° der der Fukoseverbindung.

Das Filtrat wurde nach der allgemeinen Methode (Kap. VII) mit 8 Tr. Formaldehyd behandelt, und die Glukose, wie bei a) der

Trennung Fukose-Glukose, in das Osazon verwandelt. Schmelzpunkt war 204—205°.

b) Beide werden als Phenylosazon erhalten, und weiter wie bei f) der Trennung Xylose-Glukose behandelt. Nur Mannosazon = Glukosazon bleibt zurück.

c) Mannose kann nach i) der Trennung Xylose-Glukose und nach 4 e) der Trennung Arabinose-Glukose vergoren werden. Fukose bleibt und kann nach B. dieses Kapitels, S. 239, identifiziert werden.

21. Fukose und d-Galaktose

Aus Kap. VI erhellt, das hierfür dienen könnten: α-Methylphenyl-, Phenyl-, p-Bromphenyl-, o-Tolyl-, Diphenylhydrazon und Phenylosazon, weiter die Schleimsäurereaktion.

a) Müther und Tollens (a. a. O.) haben eine Trennung mittels Phenylhydrazin und α-Methylphenylhydrazin ausgearbeitet.

Es wurde wie folgt verfahren:

200 mg Fukose + 200 mg Galaktose in 2,5 ccm W. wurden mit 400 mg Phenylhydrazin gemischt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon abgesogen und aus 96%-A. umkristallisiert. Schmelzpunkt war 155°, also ein Zwischenschmelzpunkt der beiden Verbindungen. Wir haben also hier dasselbe wie bei Fukose-Arabinose. Der Löslichkeitsunterschied zwischen den Phenylhydrazonen der Fukose, der Arabinose und der Galaktose ist für ihre Trennung nicht groß genug, um sicher zu sein. Es war jedoch genug Galaktose in Lösung geblieben, um nach Benzaldehydbehandlung nach Kap. VII, mit 3 ccm 96%-A. und 200 mg aus Wasser umkristallisiertes o-Tolylhydrazin, das Hydrazon mit Schmelzpunkt 175° zu geben.

Fukose war hier also nicht nachgewiesen worden.

b) 200 mg Fukose + 200 mg Galaktose in 3 ccm W. wurden kurze Zeit mit 400 mg gereinigtem Diphenylhydrazin und A. zur klaren Lösung erhitzt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon mit W. und mit 96% A. gewaschen und aus diesem umkristallisiert. Schmelzpunkt war 198°, der der Fukoseverbindung.

Das mit 8 Tr. Formalin nach Kap. VII behandelte Filtrat gab die Galaktose, welche, mit 5 ccm abs. A. und 200 mg aus wenig Wasser umkristallisiertem o-Tolylhydrazin kurze Zeit erhitzt, in 24 St. ein Hydrazon gab, das aus 95%-A. umkristallisiert bei 175° schmolz, also der der Galaktoseverbindung.

c) Fukose kann als p-Bromphenylhydrazon in essigsaurer Lösung mittels 400 mg des Hydrazins nach S. 158 erhalten werden.

Das Filtrat wieder nach b).

d) Beide können als Phenylosazon erhalten und nach f) der Trennung Xylose-Galaktose getrennt werden.

Wenn genug Galaktosazon vorliegt, bleibt ein Teil zurück; kann aber auch durch Azeton mit in Lösung gehen, wenn wenig anwesend ist.

e) Galaktose kann nach der Schleimsäurereaktion nach S. 103 nachgewiesen werden.

Fukose ist dann nicht mehr nachweisbar.

22. Fukose und d-Fruktose

Aus Kap. VI erhellt, daß hierfür dienen könnten: Phenyl-, p-Bromphenyl-, α-Methylphenyl-, β-Naphthyl-, Diphenyl-, m-Nitrophenyl-, p-Brombenzoyl-, p-Tolylhydrazon, Phenyl-, p-Bromphenyl-, und α-Methylphenylosazon.

Die folgenden Trennungen wurden ausgeführt:

a) 200 mg Fukose + 200 mg Fruktose in 3 ccm W. wurden mit 400 mg Phenylhydrazin gemischt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon mit W. gewaschen und aus 30%-A. umkristallisiert. Schmelzpunkt war 171°, also der der Fukoseverbindung.

Das Filtrat wurde mit 10 ccm W., 400 mg salzs. Phenylhydrazin und 600 mg Natriumazetat während 1 St. im Wasserbade erhitzt. Das Osazon wurde mit W. und mit Azeton gewaschen und aus 70% umkristallisiert. Schmelzpunkt war 210°, also der der Fruktoseverbindung.

b) 200 mg Fukose + 200 mg Fruktose wurden mit 3 ccm W., 400 mg α-Methylphenylhydrazin und A. zur klaren Lösung gebracht. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon mit W. gewaschen und aus 30%-A. umkristallisiert. Nach einmaliger Wiederholung war der Schmelzpunkt 180°, also der der Fukoseverbindung.

Es gelang nicht, Fruktose nach S. 219 als p-Bromphenylosazon nachzuweisen, weil nach Umkrist. aus 90%-A., ein Schmelzpunkt 204°, statt 214° erhalten wurde.

Daher wird besser nach a) verfahren.

c) 200 mg Fukose + 200 mg Fruktose wurden mit 5 ccm 95%-A. und 400 mg aus W. umkrist. p-Tolylhydrazin während 1/4 St. erhitzt. Bald kristallisierte ein Hydrazon, das nach Aus-

waschen mit 95 %-A., Umkristallisierung aus diesem, und zweimal aus W., Auswaschung mit A., bei 197—198° schmolz, also die Fukoseverbindung war.

Nach Behandlung des Filtrates mit 8 Tr. Formaldehyd nach Kap. VII wurde die Fruktose nach a) identifiziert.

d) 200 mg Fukose + 200 mg Fruktose wurden, wie bei b) angegeben, mit Diphenylhydrazin behandelt. Nach 24 St. wurde das Hydrazon durch Schütteln und Abkühlen vermehrt usw. Nach dem Umkrist. aus 96%-A. war der Schmelzpunkt 197—198°, also der der Fukoseverbindung.

Fruktose wurde wieder nach a) nachgewiesen.

e) Wenn mindestens ½ g Fruktose vorliegt, kann sie als α-Methylphenylosazon nach S. 223 identifiziert werden.

Fukose ist dann nicht mehr nachweisbar.

f) Fruktose kann mittels Preßhefe vergoren werden, Fukose bleibt. Siehe bei 4 e) der Trennung Arabinose-Glukose, S. 246. Sie wird identifiziert nach B. S. 239.

g) Beide Osazone können erhalten und mittels Azeton getrennt werden; Fruktosazon = Glukosazon bleibt, und schmilzt nach Umkrist. aus 70%-A. bei 210°.

23. d-Glukose und d-Mannose

Aus Kap. VI erhellt, daß hierfür dienen könnten: Phenyl-, p-Bromphenyl-, α-Methylphenyl-, p-Tolyl-, und o-Nitrophenylhydrazon; weiter die Zuckersäurereaktion.

Die folgenden Trennungen wurden ausgeführt:

a) d-Mannose wird in 10 ccm W. mit Phenylhydrazin als Hydrazon niedergeschlagen, und nach S. 149 identifiziert.

Wenn nun mindestens ½ g Glukose im Filtrate vorliegt, kann sie, nach Formaldehydbehandlung in Kap. VII, als zuckersaures Silber nach S. 100 identifiziert werden.

b) Mannose wird als p-Bromphenylhydrazon in essigsaurer Lösung (S. 159), oder als α-Methylphenylhydrazon nach S. 165 niedergeschlagen und identifiziert.

Glukose wieder wie bei a).

c) Mannose wurde nach S. 205 als p-Tolylhydrazon abgetrennt, und aus viel 96%-A. umkristallisiert. Schmelzpunkt war 190—191°, also der der Mannoseverbindung.

Glukose wieder wie bei a).

d) Mannose kann als o-Nitrophenylhydrazon nach S. 189 nachgewiesen werden.

Glukose wieder wie bei a).

e) Wenn mindestens 1/2 g Glukose vorliegt, kann sie direkt als zuckersaures Silber nach S. 100 identifiziert werden.

Mannose ist dann nicht mehr nachweisbar.

24. d-Glukose und d-Galaktose

Aus Kap. VI erhellt, daß hierfür dienen könnten: α-Methylphenyl-, m-Nitrophenyl-, o-Tolyl-, β-Naphthylhydrazon, Phenyl- und p-Nitrophenylosazon; weiter die Zuckersäure- und die Schleimsäurereaktion.

Die folgenden Trennungen wurden ausgeführt:

a) Votoček und Vondraček (a. a. O.) identifizieren Galaktose als α-Methylphenylhydrazon in essigs. Lösung, und im Filtrate die Glukose als Phenylosazon.

Nach dieser Arbeitsweise, aber in neutraler Lösung, wurden 200 mg Glukose und 200 mg Galaktose in 3 ccm W. mit 400 mg α-Methylphenylhydrazin und A. bis zur klaren Lösung, während 6 St. einwirken gelassen. Viel Hydrazon wurde gesammelt und mit W. gewaschen. Nach Umkristallisierung aus 30%-A., war der Schmelzpunkt 190°, also der der Galaktoseverbindung.

Aus dem von Alkohol befreiten Filtrate wurde mit 400 mg salzs. Phenylhydrazin und 600 mg Natriumazetat ein Osazon erhalten, das mit W. und mit Azeton gewaschen, und aus 70%-A. umkristallisiert, bei 199° schmolz. Nach Umkristall. aus 40%-A. und Auswaschen mit heißem Azeton, war der Schmelzpunkt 201°, statt 210°. Seine Menge war nicht nur sehr verringert, sondern es war offenbar noch etwas Galaktosazon beigemischt.

Der zweite Teil der Trennung bildet mithin einen etwas schwachen Punkt. Immerhin war Glukose wahrscheinlich gemacht, und besteht die Möglichkeit, daß nach längerem Stehen der Methylphenylhydrazinlösung (24 St.) bei niedriger Temperatur die Galaktose vollständig niederschlägt, wenigstens nur in so geringer Menge in Lösung bleibt, daß sie bei dem Glukosenachweis völlig in das Azeton übergeht.

b) 200 mg d-Glukose + 200 mg d-Galaktose in 8 Tr. W., wurden mit 400 mg aus wenig W. umkrist. o-Tolylhydrazin und 5 ccm abs. A. während 1/4 St. erhitzt. Nach 24 St. wurde

das gesammelte Hydrazon aus 95%-A. umkristallisiert; es war die Galaktoseverbindung mit Schmelzpunkt 175°.

Für Glukose gilt das bei a) geschriebene.

c) Glukose kann mit Preßhefe bei 35° in 2 St. vergoren werden. (Siehe Bemerkung bei 4. e) auf S. 246). Galaktose bleibt, und kann im Filtrate als α-Methylphenylhydrazon nach a) nachgewiesen werden und nach B. S. 240.

d) 200 mg Glukose + 200 mg Galaktose in 3 ccm Eisessig wurden durch Erhitzen mit 800 mg p-Nitrophenylhydrazin in 3 ccm Eisessig, in Osazon verwandelt. Nach 24 St. wurde das abgesogene Osazon mit Eisessig, abs. A. und mit Pyridin gewaschen, wobei nur die Glukoseverbindung zurückblieb. Sie wurde aus Pyridinlösung mittels Petroläther gefällt; Schmelzpunkt war 250—251°, war also wohl als die Glukoseverbindung anzusehen (Schmelzpunkt 252°).

e) Galaktose kann als Schleimsäure nach S. 103 nachgewiesen werden, und wenn mindestens ½ g Glukose vorliegt, diese im Filtrate der Schleimsäure als zuckersaures Silber (S. 100).

25. d-Glukose und d-Fruktose

Aus Kap. VI erhellt, daß hierfür dienen könnten: o-Nitrophenylhydrazon, p-Brombenzoylhydrazon, α-Methyl-; und α-Benzylphenylosazon; weiter die Zuckersäurereaktion.

Die folgenden Trennungen wurden ausgeführt:

a) Nach W. Alberda v. Ekenstein und J. J. Blanksma[1]) wurden 200 mg Glukose + 200 mg Fruktose während 10 Min. in Alkohol mit 400 mg o-Nitrophenylhydrazin erhitzt. Nach 24 St. wurde das gesammelte Hydrazon aus 95%-A. umkristallisiert. Schmelzpunkt war 156—157° (wie Reclaire (a. a. O.) auffand, Alb. v. E. und Bl. 162°).

Nach Behandlung des Filtrats mittels 8 Tr. Formaldehyd nach Kap. VII kann die gewonnene d-Glukose als zuckersaures Silber identifiziert werden, wenn mindestens ½ g derselben vorliegt.

b) Ruff und Ollendorff[2]) identifizieren die Glukose als α-Methylphenylhydrazon und die Fruktose im Filtrate als Osazon.

Diese Trennung ist als eine sehr unsichere zu betrachten, falls die Glukoseverbindung sich schwer und unvollständig aus-

[1]) Rec. 24, 38 (1905).

[2]) O. Ruff und G. Ollendorff, Ber. 32, 3234—3237 (1899).

scheidet. Im Filtrate geben ja Glukose und die Fruktose dasselbe Osazon, und ist die Reaktion für Fruktose nicht maßgebend.

c) Hilger und Rothenfußer (a. a. O.) scheiden aus einem Gemische von 2 g jeden Saccharids in 3—4 ccm W. mittels 4 g β-Naphthylhydrazin in 50 ccm 96%-A. die Glukose ab. Das Filtrat wird im Vakuum über Schwefelsäure verdampft, in heißem Chloroform aufgenommen; nach der Abkühlung wird ein schön gelbes Hydrazon erhalten und wiederholt umkristallisiert, wobei stets das zuerst auskristallisierende Hydrazon entfernt wird. Dann wird das Fruktose-β-Naphthylhydrazon gesammelt und mit dem Schmelzpunkt 161° identifiziert.

Aus Kap. VI erhellt schon, daß die Trennung wenig Aussicht auf Erfolg geben wird, und sie ist jedenfalls für kleinere Mengen ungeeignet.

d) Fruktose kann nach S. 223 als α-Methylphenylosazon identifiziert werden, wenn mindestens ½ g Fruktose vorliegt.

e) Fruktose kann mittels der Ketosenreaktionen (S. 86 und 91) wahrscheinlich gemacht werden.

f) Wenn mindestens ½ g Glukose vorliegt, kann sie als zuckersaures Silber nach S. 100 identifiziert werden. Fruktose ist dann nicht mehr nachweisbar.

26. d-Mannose und d-Galaktose

Aus Kap. VI erhellt, daß hierfür dienen könnten: o-Tolyl-, α-Methylphenyl-, p-Bromphenyl-, Phenylhydrazon und Phenylosazon, weiter die Schleimsäurereaktion.

Die folgenden Trennungen wurden ausgeführt:

a) Votoček und Vondraček (a. a. O.) scheiden d-Mannose als Phenylhydrazon in essigsaurer Lösung ab. Im Filtrate die Galaktose als α-Methylphenylhydrazon.

Es wurden nun, in neutraler Lösung, 200 mg Mannose + 200 mg Galaktose in 5 ccm W. mit 400 mg Phenylhydrazin behandelt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon aus W. umkristallisiert, Schmelzpunkt war 198—199°, also die Mannoseverbindung.

Das Filtrat gab mit 200 mg α-Methylphenylhydrazin und A. zur klaren Lösung ein Hydrazon, das nach einigen Stunden aus 30%-A. umkristallisiert, bei 190° schmolz, also die Galaktoseverbindung war.

Weil auch d-Mannose ein schwerlösliches α-Methylphenylhydrazon gibt, hat man soviel wie möglich dafür Sorge zu tragen, daß Mannose sich als Phenylhydrazon völlig ausscheidet.

b) 200 mg Mannose + 200 mg Galaktose in 8 Tr. W. wurden mit 400 mg aus wenig W. umkrist. o-Tolylhydrazin und 8 ccm abs. A. während 1/4 St. erhitzt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon aus 95%-A. umkrist. Der Schmelzpunkt war 175°, also der der Galaktoseverbindung. Nach Behandlung des Filtrats mit 8 Tr. Formalin nach Kap. VII wurde die resultierende Mannose mit 5 ccm 96%-A. und 200 mg p-Bromphenylhydrazin schwach erhitzt. Nach Umkristallisierung aus 95%-A. schmolz das erhaltene Hydrazon bei 198°, war also die Mannoseverbindung.

c) Galaktose kann als Schleimsäure nach S. 103 identifiziert werden. Mannose ist dann nicht mehr nachweisbar.

d) Mannose wird nach a) als Phenylhydrazon abgetrennt. Das Filtrat wird eingeengt und mit 200 mg o-Tolylhydrazin und 95%-A. nach b) behandelt. Schmelzpunkt war 175—176°.

e) Mannose kann mit Preßhefe bei 35° in 2 St. vergoren werden. (Siehe Bemerkung unter 4 e) auf S. 246.)

Galaktose kann nach B. dieses Kapitels identifiziert werden.

27. d-Mannose und d-Fruktose

Aus Kap. VI erhellt, daß hierfür dienen könnten: Phenyl-, p-Bromphenyl-, α-Methylphenyl-, p-Brombenzoyl-, p-Tolylhydrazon, p-Bromphenyl-, α-Methylphenyl-, α-Benzylphenyl- und p-Nitrophenylosazon.

Die folgenden Trennungen wurden ausgeführt:

a) Aus einem Gemisch von 200 mg Mannose und 200 mg Fruktose in 10 ccm W. wird Mannose nach S. 149 als Phenylhydrazon, oder als p-Bromphenylhydrazon nach S. 159, oder als Methylphenylhydrazon nach S. 165 niedergeschlagen. Am besten ist das Phenylhydrazin. Nach Umkristallisierung aus 60%-A. war der Schmelzpunkt 199°.

Aus dem Filtrate wurde die Fruktose mit 5 Tr. Benzaldehyd nach der allgemeinen Methode auf S. 228 wiedergewonnen. Nach Lösung in einigen ccm W. wurde mit 600 mg salzs. p-Bromphenylhydrazin und 750 mg Natriumazetat nach S. 219 ein Osazon erhalten, das nach Umkristallisierung aus 90%-A. bei 214° schmolz, also die Fruktoseverbindung war.

b) Aus 100 mg Mannose + 200 mg Fruktose in 5 ccm 96%-A. wurde durch Erhitzen mit 1/4 g p-Brombenzhydrazin während 1/4 St. die Mannose in 24 St. niedergeschlagen. Nach Abwaschen mit 96%-A. und 2mal Umkrist. aus diesem, war der Schmelzpunkt 196°, also der der Mannoseverbindung.

Aus dem Filtrate wurde mit 8 Tr. Formalin nach Kap. VII die Fruktose wiedergewonnen, und in 2,5 ccm Eisessig durch Erhitzen mit 400 mg *p-Nitrophenylhydrazin* in 2,5 ccm Eisessig in das Osazon verwandelt. Nach 24 St. wurde es abgesogen, mit Eisessig, abs. A., Pyridin, abs. A. gewaschen. Schmelzpunkt war 252°, also der der Fruktoseverbindung.

c) Aus 200 mg d-Mannose + 200 mg d-Fruktose in 8 Tr. W. wurde Mannose durch Erhitzen mit 8 ccm abs. A. und 400 mg p-Tolylhydrazin während 1/4 St., in 24 St. niedergeschlagen. Nach Umkrist. aus 95%-A. war der Schmelzpunkt 191°, also der der Mannoseverbindung.

Die Identifizierung der Fruktose als p-Bromphenylosazon gelang nicht, offenbar, weil die noch anwesende Mannose als Hydrazon dem Übergang in Osazon hartnäckig Widerstand bietet. Der Schmelzpunkt war 200°, anstatt 214°.

d) Wenn mindestens 1/2 g Fruktose vorliegt, kann sie als α-Methylphenylosazon nach S. 223 identifiziert werden.

28. d-Galaktose und d-Fruktose

Aus Kap. VI erhellt, daß hierfür dienen könnten: Phenyl-, p-Bromphenyl-, o- und p-Tolyl-, p-Brombenzhydrazon, p-Bromphenyl-, α-Methylphenyl-, α-Benzylphenyl- und p-Nitrophenylosazon; weiter die Schleimsäurereaktion.

Die folgenden Trennungen wurden ausgeführt:

a) Ruff und Ollendorff (a. a. O.) trennten Galaktose als Methylphenylhydrazon ab, und im Filtrate Fruktose als Osazon.

Der Galaktosenachweis gelingt, die Galaktose wird aber manchmal nicht völlig abgeschieden. Ein Teil kommt alsdann zur Fruktose. Beide werden als Phenylosazon ausgeschieden, und sind mittels Azeton schwer zu trennen.

b) 200 mg Galaktose + 200 mg Fruktose in 3 ccm W. wurden mit 400 mg α-Methylphenylhydrazin und A. zur klaren Lösung schwach erhitzt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon abgesogen, mit W. gewaschen, aus heißem W., dann aus 30%-A. umkrist. Schmelzpunkt war 191°, also der der Galaktoseverbindung.

Das Filtrat wurde während 2 St. mit 600 mg salzs. p-Bromphenylhydrazin und 800 mg Natriumazetat erhitzt. Nach 24 St. wurde ein Osazon mit W., dann mit 90%-A. gewaschen, und aus diesem umkrist. Schmelzpunkt war 215°, also der der Fruktoseverbindung.

Es ist Sorge dafür zu tragen, daß die Galaktose sich möglichst vollständig ausscheidet, weil sie sonst die Fruktose stört.

c) 200 mg d-Galaktose + 200 mg Fruktose in 8 Tr. W. wurden während 1/4 St. mit 0,4 g p-Tolylhydrazin und 6 ccm abs. A. erhitzt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon aus 95%-A. umkrist. Der Schmelzpunkt war 168°, der der Galaktoseverbindung.

Das Filtrat, wie bei b) behandelt, gab ein Osazon mit Schmelzpunkt 208 (theor. 215°). Offenbar stört eine geringe Menge noch anwesende Galaktose durch Hydrazonbildung (siehe S. 219).

d) So wurde wie bei c) die Galaktose als o-Tolylhydrazon niedergeschlagen und nach S. 206 mit Schmelzpunkt 175° identifiziert. Das Filtrat, wie bei b) behandelt, gab ein Osazon mit Schmelzpunkt 210°, statt 215°. Dieselbe Ursache wie bei c). Manchmal entsteht ein geleeartiges Osazon mit Kristallen; durch Säurehinzufügung ist es absaugbar zu machen.

e) Galaktose kann als Schleimsäure nach S. 103 identifiziert werden. Fruktose ist dann nicht mehr nachweisbar.

f) Fruktose kann mittels Preßhefe vergoren werden (siehe Bemerkung unter 4 e) auf S. 246). Galaktose bleibt und kann nach B. dieses Kapitels nachgewiesen werden.

g) Wenn mindestens 1/2 g Fruktose vorliegt, kann sie als α-Methylphenylosazon nach S. 223 identifiziert werden.

D. Trennung und Identifizierung von Gruppen dreier Monosaccharide

Bemerkungen:

Die Trennung und Identifizierung von drei Monosacchariden gestalten sich weit schwieriger, als die von zwei Monosacchariden. Es ist also auch hier angebracht, einer Anhäufung von Hydrazinen und Hydrazonen in der Mutterlauge vorzubeugen, weil sonst die Kristallisierung, wie wir schon bei C. beschrieben haben, sehr erschwert wird. Bei den Trennungen verfuhr ich nach folgendem Prinzip:

Eins der drei Monosaccharide wird als ein für ihn charakteristisches Hydrazon zur Kristallisation gebracht. Durch Benzaldehyd- oder Formaldehydbehandlung werden die beiden anderen in freiem Zustande erhalten. Mit diesen zwei Sacchariden werden die Trennungen, bei C. genannt, ausgeführt.

Es würde genügen, ohne weiteres auf C. dieses Kapitels hinzuweisen, wäre es nicht, daß die Möglichkeit der unvollständigen Auskristallisierung des ersten Saccharids besteht, durch welche ein Teil, sei es auch ein geringer, zu den anderen kommt und Komplizierungen auftreten können, welche den Nachweis der beiden anderen stören oder erschweren.

Jedesmal habe ich dieser Möglichkeit Rechnung getragen.

Es sei aber darauf hingewiesen, daß man sich sehr viel Mühe geben muß, das erste Hydrazon durch Beseitigung von Verunreingungen, längere Kristallisationsdauer und Abkühlung, möglichst vollständig zu erhalten.

Im übrigen gilt das bei C. Gesagte.

Es wurden folgende Dreizahle behandelt. Wenn gegebenenfalls andere Dreizahle vorliegen möchten, so wird dafür auf Kap. VI verwiesen, wo die Daten zu finden sind.

I. l-Arabinose, Xylose und Rhamnose.

Methode:

Arabinose wird niedergeschlagen usw. Xylose und Rhamnose werden getrennt.

a) Ein Gemisch von 200 mg jeden Saccharids in 10 ccm 75 %-A. wurde mit 600 mg α-Benzylphenylhydrazin schwach erhitzt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon abgesogen und aus 75 %-A. umkrist. Es wurden 300 mg Arabinoseverbindung mit dem Schmelzpunkt 174° erhalten.

Das Filtrat wurde mit 16 Tr. 40 %-Formaldehyd nach Kap. VII behandelt und schließlich die Xylose-Rhammnose erhalten.

Nach C. kommt nun Folgendes in Erwägung:

1. p-Brombenzhydrazid und Xylonsäurereaktion.

Die sirupöse Xylose-Rhamnose wurde mit 5 ccm 96 %-A. und 300 mg p-Brombenzhydrazid, wie auf S. 252, Trennung b) behandelt. Es resultierte ein Hydrazon mit dem Schmelzpunkt 185°, zu wenig aber, um nochmals umkristallisiert zu werden (Rhamnoseverbindung 189—190°). Rhamnose konnte in dieser Menge also

nicht ganz sicher nachgewiesen werden, und soll von einer größeren Menge als 200 mg ausgegangen werden.

Aus dem Filtrate wurde die Xylose nach Formaldehydbehandlung (8 Tr.) gewonnen. Nach der Xylonsäurereaktion (S. 58) wurden nur Nädelchen erhalten. Nach Absaugen, Lösen in 1 ccm W. und Hinzufügung von 1 ccm abs. A. wurden die bootförmigen Kristalle erhalten.

Wenn es unverhofft nicht gelingen würde, die Arabinose vollständig als Benzylphenylhydrazon niederzuschlagen, so kann sie Rhamnose stören, weil sie ebenso ein p-Brombenzhydrazid ausscheidet (Schmelzpunkt 216°).

2. Rhamnose als β-Naphthylhydrazon, Xylose nach der Xylonsäurereaktion. Auch hier gilt das bei 1. Geschriebene. Schmelzpunkt Rhamnoseverbindung 192—193°, der Arabinose 174 bis 175°. Empfindlichkeit siehe A. dieses Kap.

3. Xylose kann direkt nach der Xylonsäurereaktion nachgewiesen werden (S. 58). Rhamnose ist dann nicht mehr nachweisbar.

4. Rhamnose kann nach Trennung e) von Xylose-Rhamnose bei C. als p-Bromphenylosazon nachgewiesen werden. Eventuell etwa noch anwesende Arabinose bleibt beim Umkristallisieren aus 90%-A. in Lösung. Es ist aber wünschenswert, etwas mehr als 200 mg Rhamnose zu nehmen. Schmelzpunkt 218°.

Xylose ist dann nicht mehr nachweisbar.

2. l-Arabinose, Fukose und d-Glukose

Methode:

Arabinose als Benzhydrazon aus wässeriger Lösung niederschlagen (Empfindlichkeit siehe A.). Formaldehydbehandlung des Filtrats und die Fukose-Glukose trennen (siehe C.).

200 mg Arabinose + 200 mg Fukose + 200 mg Glukose in 6 ccm W. wurden mit 600 mg Benzhydrazin schwach erwärmt. Nach 24 St. wurde auf Saugfilter mit W. gewaschen und aus 96%-A. umkrist. Schmelzpunkt war 217°, der der Arabinoseverbindung.

Das Filtrat wurde nach Kap. VII mit 16 Tr. Formaldehyd + 5 ccm A. weiter behandelt und die Fukose-Glukose nach C. getrennt:

1. Fukose als p-Tolylhydrazon, Glukose als Phenylosazon.

Diese Trennung gelingt, falls alle Arabinose niedergeschlagen worden ist, sonst kann ein Teil derselben als p-Tolylhydrazon neben der Fukose erhalten werden; überdies unterscheiden sich deren Schmelzpunkte wenig (Arabinose 166°, Fukose 169°).

Der Nachweis der Glukose als Phenylosazon gelingt, auch wenn noch etwas Fukose oder Arabinose in Lösung geblieben sein würde (Azetonauswaschung).

2. Fukose als α-Methylphenyl- oder als p-Bromphenyl- oder als Diphenylhydrazon niederschlagen. Glukose als Phenylosazon.

Die Trennungen sind gut (Empfindlichkeit siehe A.).

Wenn unverhofft etwas Arabinose in Lösung geblieben sein sollte, kann sie störend wirken, weil ihre entsprechenden Verbindungen sich ebenso ausscheiden.

Siehe für die Schmelzpunkte Kap. VI.

Wie bei 1. gelingt der Glukosenachweis als Phenylosazon.

3. Wenn mindestens $^1/_2$ g Glukose vorliegt, kann sie als zuckersaures Silber nach S. 100 identifiziert werden. Fukose ist dann nicht mehr nachweisbar.

4. Glukose kann mittels Preßhefe vergoren werden bei 35° in 2 St. (siehe Bemerkung 4e) der Trennung Arabinose-Glukose, S. 246). Fukose bleibt und wird nach A. dieses Kapitels nachgewiesen. Achtung auf möglich noch etwa anwesende Arabinose, siehe also: Trennung Arabinose-Fukose.

5. Beide werden als Phenylosazon erhalten und mittels Azeton getrennt, siehe f) der Trennung Xylose-Glukose. Glukosazon bleibt zurück.

6. Fukose kann aus dem Gemisch Fukose-Glukose in 2 ccm W. mit 400 mg Phenylhydrazin als Hydrazon erhalten werden (s. S. 148). Im Filtrate wurde Glukose als Phenylosazon nach S. 213 erhalten, mit Azeton gewaschen und aus 70%-A. umkristallisiert. Schmelzpunkt war 208°.

3. l-Arabinose, d-Glukose und d-Galaktose

A. Hilger und S. Rothenfußer[1]) haben hierfür drei Trennungsweisen ausgearbeitet:

[1]) Ber. 35, 1841—1845 (1902).

1. Arabinose wird als Benzylphenylhydrazon niedergeschlagen und aus 75%-A. umkristallisiert. Die Mutterlauge wird mit Formaldehyd behandelt und Glukose-Galaktose in Sirupform erhalten. Galaktose wird nun aus alkohol. Lösung als β-Naphthylhydrazon niedergeschlagen und aus 95%-A. umkristallisiert. Aus dessen Mutterlauge wird die Glukose als β-Naphthylhydrazon erhalten.

Ausführung:

200 mg jeden Saccharids wurden zusammen in 9 ccm 75%-A. gelöst und mit 600 mg α-Benzylphenylhydrazin schwach erhitzt. Bald kristallisierte ein Hydrazon, das nach 24 St. zweimal aus 75%-A. umkristallisiert wurde. Schmelzpunkt war 174°, also der der Arabinoseverbindung.

Die Mutterlauge ohne Waschalkohol wurde mit 16 Tr. 40%-Formaldehyd nach Kap. VII behandelt. Die restierenden Saccharide würden in 10 ccm abs. A. aufgenommen und mit 400 mg aus W. umkristallisiertem β-Naphthylhydrazin erhitzt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon zweimal aus 95%-A. umkristallisiert. Es war farblos und schmolz bei 187°, war also wohl als die Galaktoseverbindung zu betrachten (189°).

Bis soweit gelingt die H. und R.sche Trennung; der Nachweis der Glukose ist aber sehr unzuverlässig,

1. weil Galaktose als β-Naphthylhydrazon nicht völlig niederschlägt (Empfindlichkeit siehe A).
2. weil das β-Naphthylhydrazon für d-Glukose ungeeignet ist (siehe S. 175), weil absolut keine Sicherheit für einen richtigen Schmelzpunkt besteht. H. und R. (a. a. O.) selber geben einen Schmelzpunkt 177—178° und bei obengenannter Trennung 117°. Auch hier kann die Glukose also nicht als nachgewiesen betrachtet werden.

2. Diese Trennung wird wie bei 1. inklusive Galaktose ausgeführt.

Aus dem Filtrate wird mittels Formaldehyd usw., Ausschüttelung mit Äthylazetat die Glukose erhalten; sie wird in ihr Diphenylhydrazon verwandelt, durch Einwirkung in Wasser + Alkohol, teilweise Verdampfung, Ätherhinzufügung und Filtration. H. und R. erhielten seidenglänzende Kristalle vom Schmelzpunkt 160—161°.

In dieser Weise ist die Identifizierung von Glukose ebenso unsicher wie bei Trennung 1, weil 1. die Galaktose nicht völlig

niederschlägt und 2. Galaktose- und Glukosediphenylhydrazon dieselbe Bildungsweise und fast denselben Schmelzpunkt besitzen (siehe S. 181 und S. 180).

3. Die alkoholische Saccharidenlösung wird mit einer alkoholischen Lösung einer äquivalenten Menge β-Naphthylhydrazin und mit der 40fachen Menge des Hydrazins an Alkohol während 15 bis 20 St. einwirken gelassen. Die Galaktoseverbindung scheidet sich aus und wird zweimal aus 96%-A. umkristallisiert. Die Mutterlauge wird mit Formaldehyd usw. und die Saccharide nach 1. in 75%-A. mit Benzylphenylhydrazin behandelt. Arabinose scheidet sich aus, Glukose als Diphenylhydrazon.

Ausführung:

Ein Gemisch von 200 mg jeden Saccharids wurde in 500 mg W. gelöst und mit 600 mg aus W. umkristallisiert. β-Naphthylhydrazin in 24 ccm abs. A. schwach erhitzt. Nach 24 St. hatte sich kein Hydrazon ausgeschieden (t etwa 25°). Nach Abkühlung im Kaltwasserstrahl und Schütteln fing die Lösung zu kristallisieren an. Nach einigen Stunden Verbleibens in Eiswasser wurde abgesogen und mit dem Filtrate in derselben Weise verfahren. Nach Absaugen wurde während der Nacht stehen gelassen, und weiter einige Stunden in Eiswasser gestellt. Die Ausscheidungen wurden vereint, und zweimal aus A. umkristallisiert. Schmelzpunkt 1. Best.: 185°, 2. 187—188°, also die Galaktoseverbindung.

Die Mutterlaugen der ersten Kristallisationen (ohne Waschalkohol) wurden mit 16 Tr. Formalin nach Kap. VII behandelt. Die restierenden Saccharide wurden in 5 ccm 75%-A. mit 400 mg α-Benzylphenylhydrazin kurze Zeit erhitzt.

Nach 24 St. wurde ein Hydrazon zweimal aus 75%-A. umkristallisiert. Der Schmelzpunkt war 173—174°, also der der Arabinoseverbindung.

Bis so weit gelingt die Trennung; der Nachweis der Glukose als Diphenylhydrazon ist, wie schon bei 2. geschrieben, unsicher.

Von den drei H. und R.schen Trennungen änderte ich den letzten Teil, den Glukosenachweis.

Abgeänderte Trennung:

Trennung 1 wird, wie dort angegeben, ausgeführt, inklusive Galaktose, ebenso Trennungen 2 und 3.

Das Filtrat des zweiten identifizierten Saccharids wird bei den drei Trennungen während 1 St. mit 16 Tr. 40%-Formaldehyd

nach Kap. VII weiter behandelt, und das schließlich erhaltene Saccharid während 1 Std. mit 400 mg salzs. Phenylhydrazin und 600 mg Natriumazetat erhitzt. Nach Abkühlung wird mit W. und mit Azeton gewaschen, aus 70%-A. umkristallisiert, wieder mit Azeton gewaschen. Schmelzpunkt war 207°, war also d-Glukosazon.

Schlußfolgerung:

Mit dieser letzten Abänderung sind die Hilger- und Rothenfußerschen Trennungen gut brauchbar. Es verdient Beachtung, daß die β-Naphthylhydrazone oft in ihrer Kristallisierung stark gehemmt werden (siehe A dieses Kapitels).

4. E. Votoček und R. Vondraček[1]) gaben folgende Trennung:

Arabinose wird als Diphenylhydrazon niedergeschlagen; im Filtrate die Galaktose als α-Methylphenylhydrazon und in dessen Filtrate die d-Glukose als Phenylosazon.

Ausführung und Abänderung:

Ein Gemisch von 200 mg jeden Saccharids wurde mit 5 ccm W., 600 mg reinem Diphenylhydrazin und A. zur klaren Lösung erhitzt. Nach 24 St. war aber nichts auskristallisiert (t etwa 25°). Nach Abkühlung im Kaltwasserstrahl und Schütteln trat ziemlich schnell Kristallisation ein. Nach einer Stunde wurde das Hydrazon mit 96%-A. gewaschen, und zweimal aus diesem umkristallisiert. Schmelzpunkt war 203—204°, also der der Arabinoseverbindung. Nach einigen weiteren Stunden kristallisierte nichts mehr aus.

Dem Filtrate wurden 400 mg α-Methylphenylhydrazin zugegeben. Nach 24 St. war nichts auskristallisiert (t etwa 25°). Nach Hinzufügung einer kleinen Menge W. und Abkühlen im Kaltwasserstrahl (besser in Eiswasser) fing die Kristallisierung an. Nach einigen Stunden wurde ein Hydrazon aus 30%-A. umkristallisiert. Schmelzpunkt war 190°, also der der Galaktoseverbindung. Nach einigen weiteren Stunden kristallisierte nichts mehr aus.

V. und V. weisen nun im Filtrate die Glukose ohne weiteres als Phenylosazon nach. Ich stieß dabei auf die Schwierigkeit, daß ein Gemisch aus einem Hydrazon (wahrscheinlich ein α-Methylphenyl-

[1]) Ber. 37, 3848 (1904).

hydrazon) und etwas Osazon erhalten wurde. Dieses entstandene Osazon war nämlich von sehr heller Farbe, und war bei Abwaschung mit Azeton fast völlig weiß geworden. Der Schmelzpunkt war 190°, der des Galaktose-α-Methylphenylhydrazons.

Es ist daher erforderlich, das Filtrat des Galaktose-α-Methylphenylhydrazons mit 16 Tr. Formalin nach Kap. VII zu behandeln, und die schließlich gewonnenen Saccharide während 1 St. mit Wasser, 400 mg salzs. Phenylhydrazin und 600 mg Natriumazetat zu erhitzen, also beide in ihr Phenylosazon zu verwandeln, diese mit W. und mit Azeton gut auszuwaschen und aus 70%-A. umzukristallisieren, bis der Schmelzpunkt des Glukosazons erreicht ist.

5. Eine neue Trennung kann wie folgt ausgeführt werden: Galaktose wird als o-Tolylhydrazon nach S. 206 niedergeschlagen.

Nach 24 St. wird das Filtrat mittels Formaldehyd nach Kap. VII behandelt, und die schließlich erhaltene Arabinose-Glukose nach C. getrennt, nämlich Arabinose als α-Benzylphenylhydrazon in 75%-A. (Galaktose stört nicht) und im Filtrate Glukose als Phenylosazon, Abwaschen mit Azeton, Umkristallisation aus 70%-A.

6. Glukose kann mit Preßhefe bei 35° in 2 St. vergoren werden (siehe Bemerkung unter 4e) auf S. 246). Arabinose-Galaktose werden getrennt nach C. S. 248.

4. l-Arabinose, d-Mannose und d-Galaktose

1. Votoček und Vondraček (a. a. O.) haben eine Trennung ausgearbeitet: Mannose wird als Phenylhydrazon niedergeschlagen, Arabinose im Filtrate als Diphenylhydrazon, und in dessen Filtrate, wenn nötig, nach Konzentrierung und Abfiltrieren von event. noch ausgeschiedenem Arabinosediphenylhydrazon die Galaktose als α-Methylphenylhydrazon.

Ausführung und Abänderung:

Ein Gemisch von 200 mg jeden Saccharids wurde in 10 ccm W. gelöst und mit 600 mg Phenylhydrazin gemischt (V. und V. fügen Alkohol hinzu, das wurde aber hier unterlassen). Nach 24 St. wurde ein Hydrazon abgesogen, mit W. gewaschen und aus 30%-A. umkristallisiert; das wurde mit dem bräunlichen Hydrazon wiederholt unter Zuhilfenahme von Tierkohle. Das farblose

Hydrazon schmolz bei 198—199°, war also die Mannoseverbindung.

Im Filtrate entstand mit 400 mg Diphenylhydrazin und A. zur klaren Lösung gebracht, in 2 × 24 St. keine Hydrazonausscheidung, sehr wahrscheinlich durch die Anhäufung von Hydrazin und Hydrazon.

Es wurde nun wie folgt verfahren:

Das Filtrat des Mannosehydrazons wurde mit 10 Tr. 40%-Formaldehyd und Alkohol nach Kap. VII behandelt. Die erhaltenen Saccharide wurden in 5 ccm W. gelöst, mit 400 mg Diphenylhydrazin und A. zur klaren Lösung gebracht und schwach erhitzt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon gesammelt, und aus dem auf die Hälfte eingedampften Filtrate noch etwas erhalten. Aus Alkohol umkristallisiert war der Schmelzpunkt 195—196°, nach einmaliger Wiederholung 203°, also der der Arabinoseverbindung.

Das Filtrat wurde nun mit 200 mg α-Methylphenylhydrazin gemischt (V. und V. fügen Eisessig zu, das geschah hier aber nicht). Nach 24 St. wurde ein Hydrazon aus 30%-A. umkristallisiert. Es war die Galaktoseverbindung mit Schmelzpunkt 190—191°.

Schlußfolgerung:

Die Trennung mit der angegebenen kleinen Abänderung gelingt gut. Vorsicht mit den Diphenylhydrazonen, welche leicht in ihrer Kristallisierung gehemmt oder verlangsamt werden.

2. Folgende Trennung kann noch ausgeführt werden:

Galaktose wird als o-Tolylhydrazon (Empfindlichkeit bei A.) nach S. 206 niedergeschlagen, und mit Schmelzpunkt 176° identifiziert. Aus dem Filtrate wird nach Formaldehydbehandlung nach Kap. VII die Arabinose-Mannose erhalten und wie bei C. S. 246 getrennt. Mannose als Phenylhydrazon in wässeriger Lösung (1—10) (Galaktose stört nicht), und in dem Filtrate die Arabinose als Benzylphenylhydrazon aus 75%-A. (Mannose und Galaktose stören nicht).

3. Mannose kann mittels Preßhefe bei 35° in 2 St. vergoren werden (siehe Bemerkung bei 4e) auf S. 246). Arabinose und Galaktose werden wie bei C. S. 248 getrennt.

5. l-Arabinose, d-Galaktose und d-Fruktose

Methode:

1. Arabinose wird als α-Benzylphenylhydrazon niedergeschlagen. Galaktose und Fruktose wie bei C. S. 272 getrennt.

Ein Gemisch von 200 mg jeden Saccharids wurde in 5 ccm 75%-A. mit 600 mg α-Benzylphenylhydrazin erhitzt (siehe weiter vorige Trennung 4). Die Arabinoseverbindung wurde mit dem Schmelzpunkt 173° erhalten.

Das Filtrat wurde mit 16 Tr. 40%-Formaldehyd nach Kap. VII behandelt und schließlich die sirupöse Galaktose-Fruktose erhalten:

a) Galaktose als α-Methylphenylhydrazon, Fruktose als Phenyl- oder als p-Bromphenylosazon.

Die Galaktose-Fruktose in 3 ccm W. wurde mit 400 mg α-Methylphenylhydrazin und A. zur klaren Lösung versetzt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon abgesogen, aus 30%-A. umkristallisiert, und mit 70%- und 90%-A. gewaschen. Es war die Galaktoseverbindung mit Schmelzpunkt 190°. Sollte unverhofft noch etwas Arabinose in Lösung geblieben sein, so kann dieselbe stören (Schmelzpunkt 165°).

Wird das Filtrat mit 400 mg salzs. Phenylhydrazin und 600 mg Natriumazetat während 1 St. erhitzt usw., so resultiert ein Osazon, das mit W. und mit Azeton gewaschen und aus 70%-A. umkristallisiert wird. Fruktosazon = Glukosazon.

Ebenso kann die Fruktose wie folgt nachgewiesen werden, aber weniger sicher: Das Filtrat der Galaktoseverbindung wird mit 500 mg salzs. p-Bromphenylhydrazin, 600 mg Natriumazetat und W. während 3 St. erhitzt. Das Osazon wurde abgesogen, mit W. und mit 90%-A. gewaschen. Das gelbe Osazon wurde mit zur völligen Lösung ungenügender Menge 90%-A. erhitzt (sonst wird das Osazon oft gelatinös erhalten, und wäre der Nachweis mißlungen). Nach der Abkühlung wurde wieder gesammelt und die Umkristallisierung wiederholt. Es war die Fruktoseverbindung mit Schmelzpunkt 214°. Die Ausbeute war aber sehr gering, und ist das Phenylosazon vorzuziehen. Kleine Mengen in Lösung gebliebene Galaktose stören nicht. Auch Arabinose bleibt in 90%-A. in Lösung.

b) Galaktose als p-Tolylhydrazon, Fruktose als Phenylosazon.

Ist unverhofft noch etwas Arabinose in Lösung geblieben, so ist der Galaktosenachweis unsicher (Schmelzpunkt siehe Kap. VI, S. 206).

c) Galaktose als o-Tolylhydrazon, Fruktose als Phenylosazon.

Die Galaktose-Fruktose wurde mit 5 ccm 96%-A. und 400 mg aus wenig W. umkristallisiert. o-Tolylhydrazin erhitzt (½ St.). Nach 24 St. wurde ein Hydrazon aus 96%-A. umkrist. Der Schmelzpunkt war 176°, also der der Galaktoseverbindung. In Lösung gebliebene Arabinose stört nicht.

Fruktose wieder als Phenylosazon wie bei a), besser noch nach Formaldehydbehandlung nach Kap. VII. Umkrist. aus 70%-A., Waschen mit Azeton, bis event. etwa noch anwesendes Galaktosazon völlig entfernt ist und der Schmelzpunkt 210° erreicht ist.

2. Methode:

Galaktose als o-Tolylhydrazon (Empfindlichkeit bei A.). Filtrat Formaldehydbehandlung nach Kap. VII, und Arabinose-Fruktose erhalten. Trennung wie bei C. S. 250, z. B. Arabinose als Benzylphenylhydrazon in 75%-A. Fruktose in etwas eingedampftem Filtrate als Phenylosazon nach 1 a).

3. Methode:

Fruktose kann mittels Preßhefe bei 35° in 2 St. vergoren werden (siehe Bemerkung bei 4 e) auf S. 246.

Arabinose und Galaktose werden nach C. S. 248 getrennt.

6. Xylose, Fukose und d-Glukose

Methode:

Fukose wird als α-Methylphenylhydrazon niedergeschlagen, Xylose und Glukose getrennt.

Ein Gemisch von 200 mg jeden Saccharids in 5 ccm W. wurde mit 600 mg des Hydrazins und A. zur klaren Lösung erhitzt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon aus 30%-A. umkrist. Es war die Fukoseverbindung mit Schmelzpunkt 180°.

Das Filtrat wurde mit 16 Tr. Formalin nach Kap. VII behandelt und schließlich die Xylose-Glukose erhalten.

1. Glukose als p-Nitrophenylhydrazon, Xylose nach der Xylonsäurereaktion.

Die Xylose-Glukose wurde mit 5 ccm 95%-A. und 400 mg p-Nitrophenylhydrazin erhitzt (S. 182). Nach 24 St. hatte sich nichts ausgeschieden; das kommt bei diesen Hydrazonen leicht

vor. Als nun mittels Ä. das Hydrazon ausgeschieden und aus 96%-A. umkristallisiert wurde, war der Schmelzpunkt etwa 205°, also zwischen dem der Glukose (189°) und dem der Fukose (211°) liegend. Der Glukosenachweis gelang also nicht.

Das Filtrat, auch das des p-Nitrophenylhydrazons, wird nach Formaldehydbehandlung nach Kap. VII auf die Xylonsäurereaktion für Xylose verarbeitet.

2. Die Xylose-Glukose kann direkt auf die Xylonsäurereaktion verarbeitet werden nach S. 58, Glukose ist dann nicht mehr nachweisbar.

3. Die Xylose-Glukose wird mit 10 ccm W., 400 mg salzs. Phenylhydrazin und 600 mg Natriumazetat erhitzt (S. 213). Das Osazon wird mit W. und mit Azeton ausgewaschen und aus 70%-A. umkristallisiert. Glukosazon, Schmelzpunkt 210°. Xylose und Fukose stören nicht.

4. Die Xylose-Glukose kann nach Lösung in 5 ccm 96%-A. mit 400 mg m-Nitrophenylhydrazin erhitzt werden. Xylose schlägt nieder und wird aus 96%-A. umkrist. Schmelzpunkt 163°. Die Reaktion ist nicht empfindlich (siehe A.), und können größere Mengen als 200 mg Xylose nötig sein. Überdies kann noch etwas in Lösung gebliebene Fukose stören durch Ausscheidung ihres m-Nitrophenylhydrazons, Schmelzpunkt 204°.

Das Filtrat wird nach Formaldehydbehandlung wieder auf Glukosazon, wie bei 3., verarbeitet.

5. Wenn größere Mengen Glukose vorliegen, kann sie als p-Brombenzhydrazon erhalten werden (S. 199), und die Xylose im Filtrate nach Formaldehydbehandlung in Kap. VII, nach der Xylonsäurereaktion. Ist aber noch etwas Fukose in Lösung geblieben, so stört sie den Glukosenachweis. Schmelzpunkt 205 bis 209°, der der Glukose 201°.

Die Reaktion ist überdies unempfindlich und wie oben deutlich wurde, unsicher.

6. Wenn mindestens ½ g Glukose vorliegt, kann sie als zuckersaures Silber nach S. 100 identifiziert werden.

Xylose ist dann nicht mehr nachweisbar.

7. Beide können als p-Bromphenylosazone nach e) der Trennung Xylose-Rhamnose (S. 252) erhalten werden. Nach Umkrist. aus 90%-A., wird schließlich die Glukoseverbindung mit Schmelzpunkt 215—216° erhalten. Xylose ist dann nicht mehr nachweisbar.

8. Die p-Nitrophenylosazone können nach h) der Trennung Xylose-Glukose (S. 255) erhalten und getrennt werden. Die Glukoseverbindung bleibt, Schmelzpunkt 252 °.

Methode:

In einer Menge der Mischung kann Glukose als Phenyl-Osazon nach S. 213 nachgewiesen werden (Azetonabwaschung!). Oder als zuckersaures Silber nach S. 100, wenn mindestens ½ g Glukose vorliegt.

In einer anderen Menge der Mischung wird die Glukose mittels Preßhefe bei 35 ° in 2 St. vergoren (siehe Bemerkung bei e) der Trennung Arabinose-Glukose auf S. 246). Nach Filtrieren, Eindampfen, Alkoholauskochen, Filtrieren und Eindampfen wird die Xylose-Fukose erhalten und nach C. S. 252 getrennt.

7. Xylose, d-Glukose und d-Galaktose

Methode:

Galaktose wird als α-Methylphenylhydrazon (wie die Fukose bei Trennung 6) oder als o-Tolylhydrazon nach S. 206 niedergeschlagen. Xylose und Glukose werden wie bei Trennung 6 angegeben, getrennt.

Hier gilt das dort bei 1—6 Gesagte, und weiter sei Folgendes bemerkt:

Ist noch etwas Galaktose in Lösung geblieben, so wird sie als Osazon bei der Phenylosazonprobe neben Glukosazon erhalten. Galaktosazon wird etwas schwierig mittels Azeton ausgewaschen.

Weiter gilt unverändert das bei 7 und 8 der vorigen Trennung Gesagte. Galaktose kann noch als Schleimsäure nach S. 103 nachgewiesen werden, und im Filtrate die Glukose als zuckersaures Silber nach S. 100, wenn mindestens ½ g vorliegt. Die Xylose ist dann nicht mehr nachweisbar.

Methode:

Es wird genau verfahren, wie bei der zweiten Trennung von 6. Nach der Glukosevergärung usw. wird die Xylose-Galaktose nach C. S. 256 getrennt.

8. Xylose, d-Mannose und d-Galaktose

Methode:

Mannose wird aus wässeriger Lösung als Phenylhydrazon niedergeschlagen. Xylose und Galaktose werden getrennt.

Ein Gemisch von 200 mg jeden Saccharids in 10 ccm W. wurde mit 600 mg Phenylhydrazin gemischt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon abgesogen; das Filtrat gab bei Abkühlung im Kaltwasserstrahl wieder Hydrazon. Nach Abwaschung mit abs. A. und Ä., Umkrist. aus 60%-A., schmolzen beide bei 199°, waren also die Mannoseverbindung.

Das Filtrat wurde mit Benzaldehyd nach Kap. VII behandelt usw., und schließlich die Xylose-Galaktose erhalten.

1. Sie wurden in 5 ccm W. gelöst und mit 400 mg α-Methylphenylhydrazin und A. zur klaren Lösung gebracht. Nach 24 St. hatte sich wenig ausgeschieden, das sich bei Abkühlung etwas vermehrte, aber gering blieb. Nach der Schmelzpunktbestimmung war es aber die Mannoseverbindung.

Die Trennungen, bei welchen Xylose vorkommt, gestalten sich, wie wir öfter erfahren haben, schwieriger als die anderen, offenbar durch Bildung von Nebenprodukten, welche die Lösung nicht nur braun färben, sondern auch die Kristallisation hemmen oder stark verzögern.

Wollen wir also die Galaktose als α-Methylphenylhydrazon identifizieren, so müssen wir zuerst die noch beigemischte Mannose vergären, wie bei e) der Trennung Arabinose-Glukose, S. 246. Die erhaltene reine Galaktose-Xylose können nach C. S. 256 identifiziert werden.

2. Aus der Galaktose-Xylose wird Galaktose mittels 400 mg aus W. umkrist. o-Tolylhydrazin und 5 ccm 96%-A. nach S. 206 abgeschieden und mit Schmelzpunkt 176° identifiziert.

Für Xylose, wie bei 1.

3. Galaktose kann als Schleimsäure nach S. 103 nachgewiesen werden. Xylose ist dann nicht mehr nachweisbar.

In einer anderen Probe kann Xylose nach der Xylonsäurereaktion nachgewiesen werden. Galaktose ist dann nicht mehr nachweisbar.

Methode:

In einer Probe kann Mannose, wie bei der vorigen Methode, identifiziert werden.

In einer anderen Probe wird die Mannose vergoren (siehe vorige Methode bei 1), und die gewonnene Xylose-Galaktose wird identifiziert nach C. S. 256.

9. Xylose, d-Galaktose und d-Fruktose

Methode:

Galaktose wird als α-Methylphenylhydrazon niedergeschlagen, Xylose und Fruktose getrennt.

Ein Gemisch von 200 mg jeden Saccharids wurde in 5 ccm W. mit 600 mg α-Methylphenylhydrazin und A. zur klaren Lösung gebracht und schwach erhitzt (S. 163). Nach 24 St. (t etwa 25°) und noch einigen Stunden in kaltem W., wurde ein Hydrazon abgesogen und aus 30%-A. umkrist. Nach einigen Stunden entstand wieder eine Ausscheidung, und nach weiteren 24 St. wieder eine. Nach der Umkristall. war der Schmelzpunkt 191°, also der der Galaktoseverbindung. Nach Behandlung des Filtrats mit 16 Tr. Formaldehyd nach Kap. VII wurde die Xylose-Fruktose erhalten:

1. Nach Lösung in 3 ccm 96%-A. wird mit 400 mg o-Nitrophenylhydrazin kurze Zeit erhitzt. Nach 24 St., und nach Abkühlung im Kaltwasserstrahle während einiger Zeit, kann die Fruktoseverbindung abgesogen und aus 96%-A. umkrist. werden. Wenn noch etwas Galaktose in Lösung geblieben sein sollte, kann diese stören, da sie ebenso niederschlägt. Schmelzpunkt Fruktoseverbindung 156—157°, der Galaktose 177—178°.

Die mittels 16 Tr. Formaldehyd nach Kap. VII aus dem Filtrate erhaltene Xylose wird wieder nach der Xylonsäurereaktion (S. 58) nachgewiesen.

2. In Xylose-Fruktose kann Xylose nach der Xylonsäurereaktion nachgewiesen werden (S. 58).

Fruktose ist dann nicht mehr nachweisbar.

3. Fruktose kann in der Xylose-Fruktose als Phenylosazon nach f) der Trennung Xylose-Glukose (S. 254) nachgewiesen werden.

4. Der Fruktosenachweis als p-Bromphenylosazon nach S. 219 gelang hier nicht, weil das Osazon gelatinierte; das kommt öfter vor, obschon die Xylose- und die möglich noch anwesende Galaktoseverbindung beim Umkristallisieren aus 90%-A. in Lösung bleiben. Vielleicht gelingt es bei größeren Mengen Fruktose.

5. Wenn mindestens ½ g Fruktose vorliegt, kann sie als α-Methylphenylosazon nach S. 223 identifiziert werden.

Xylose ist dann nicht mehr nachweisbar.

Methode:

Galaktose wird nach S. 206 mittels 600 mg o-Tolylhydrazin in 5 ccm 96 %-A. niedergeschlagen und identifiziert.

Xylose und Fruktose werden wie bei voriger Trennung nachgewiesen.

Methode:

Wie bei voriger Trennung 8 die Mannose, kann hier die Fruktose vergoren werden (siehe dort). Xylose und Galaktose bleiben und werden nach C. S. 256 getrennt.

10. Rhamnose, Fukose und d-Glukose

Methode:

Fukose wird als α-Methylphenylhydrazon niedergeschlagen, Rhamnose und Glukose getrennt.

Ein Gemisch von 200 mg jeden Saccharids in 5 ccm W. wurde mit dem Hydrazin und A. zur klaren Lösung, erhitzt. Nach 24 St. hatte sich wenig ausgeschieden. Nach einigen Stunden in kaltem W. und wieder nach 24 St. hatte sich etwas mehr ausgeschieden. Nach zweimal Umkristallisieren aus 30 %-A. war der Schmelzpunkt der Fukoseverbindung 180°.

Nach Behandlung des Filtrats mit 16 Tr. Formaldehyd nach Kap. VII usw., wurde die Rhamnose-Fukose gewonnen.

1. Es gelang nicht, die Rhamnose als p-Tolylhydrazon nach S. 205 niederzuschlagen; statt dessen wurde etwas Fukose-p-Tolylhydrazon in den charakteristischen, haarförmig verwobenen, sehr langen Kristallen erhalten. Überdies differieren die beiden Schmelzpunkte um nur 9°.

2. Beide werden als Phenylosazon erhalten und nach f) der Trennung Xylose-Glukose (S. 254) getrennt. Nur Glukosazon bleibt.

3. Wenn mindestens ½ g Glukose vorliegt, kann sie als zuckersaures Silber identifiziert werden, nach S. 100.

Nach obenstehenden Trennungen ist also die Rhamnose nicht oder sehr schwer und unsicher nachzuweisen.

Wir können aber wie folgt verfahren:

Nachdem Glukose in einer Probe, wie oben angegeben, identifiziert worden ist, wird sie in einer anderen Probe mittels Preßhefe völlig vergoren (siehe Bemerkung bei e) von Trennung Arabinose-Glukose auf S. 246).

Die Rhamnose-Fukose wird nach Trennung 14 bei C. S. 249 getrennt.

11. Rhamnose, d-Glukose und d-Galaktose

Methode:

Galaktose wird als α-Methylphenylhydrazon oder als o-Tolylhydrazon niedergeschlagen. Rhamnose und Glukose getrennt.

Die Ausscheidung der Galaktose als α-Methylphenylhydrazon geschieht wie bei Fukose der vorigen Trennung.

Die nach dieser Trennung erhaltenen Rhamnose-Glukose werden wie dort behandelt; nur sei folgendes bemerkt:

ad 2., das möglich noch etwas beigemischte Galaktosazon löst sich schwieriger in Azeton wie die Pentosazonen. Glukosazon mit Schmelzpunkt 210° bleibt.

Für die Identifizierung der Rhamnose wird auf vorige Trennung verwiesen, wobei die Rhamnose-Galaktose zurückbleiben, und nach C., Trennung 17, S. 261, behandelt werden können.

12. Rhamnose, d-Mannose und d-Galaktose

Methode:

Mannose wird als Phenylhydrazon niedergeschlagen; Rhamnose und Galaktose getrennt.

Ein Gemisch von 200 mg jeden Saccharids in 10 ccm W. wurde mit 600 mg Phenylhydrazin schwach erhitzt. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon abgesogen, aus 60%-Alkohol umkrist., mit abs. A. und Azeton gewaschen, dann aus W. umkrist. Schmelzpunkt war 199°, der der Mannoseverbindung.

Das Filtrat wurde nach Kap. VII mit Benzaldehyd behandelt usw. und schließlich die Rhamnose-Galaktose erhalten:

1. Sie wurden in 5 ccm 96%-A. gelöst und mit 400 mg o-Tolylhydrazin während 1/4 St. erhitzt. Nach 24 St. (t etwa 25°) hatte sich nichts ausgeschieden. Nach Abkühlung in kaltem W. entstand bald eine Kristallisation. Die Kristalle wurden nach einiger Zeit aus 96%-A. umkristallisiert. Schmelzpunkt der Galaktoseverbindung war 176°.

Die Identifizierung der Rhamnose als p-Bromphenylosazon nach S. 217 gelang nicht. Es wurde hauptsächlich das entsprechende Hydrazon der Galaktose erhalten.

2. Rhamnose-Galaktose wird von möglich anwesender kleiner Menge Mannose durch Preßhefe entfernt (siehe e) der Trennung Arabinose-Glukose S. 246).

Die Rhamnose-Galaktose werden nach C., Trennung 17, getrennt (S. 261).

Methode:

Galaktose wird als o-Tolylhydrazon niedergeschlagen; Rhamnose und Mannose nach C., Trennung 16 (S. 260), identifiziert, wobei folgendes zu bemerken ist:

ad a) Wenig in Lösung gebliebene Galaktose stört die Mannose nicht, wohl aber kann sie die Rhamnose als p-Bromphenylosazon stören, obschon nicht so leicht.

ad b) Galaktose kann die Mannose als α-Methylphenylhydrazon stören, da es mit niederschlägt; als p-Bromphenylosazon in kleinen Mengen stört sie die Rhamnose nicht.

ad c) Galaktosazon löst sich nicht so leicht in Azeton wie das der Pentosen. Kleine Mengen werden aber wohl entfernt.

ad d) Gilt unverändert.

ad e) Galaktose kann die Mannose als o-Nitrophenylhydrazon stören, da es mit niederschlägt. Rhamnose wie ad a).

ad f) Wie bei e). Siehe weiter oben.

Störungen durch Mannose lassen sich umgehen, durch Vergärung der Mannose nach e) der Trennung Arabinose-Glukose auf S. 246. Die Rhamnose mit möglich anwesenden Mengen Galaktose bleiben und werden nach C., Trennung 17 (S. 261), behandelt.

13. Rhamnose, d-Glukose und d-Fruktose

Methode:

Fruktose wird als o-Nitrophenylhydrazon niedergeschlagen (Empfindlichkeit siehe A. dieses Kapitels).

Rhamnose und Glukose werden getrennt.

Ein Gemisch von 200 mg jeden Saccharids in 3 ccm 96%-A. wird mit 600 mg o-Nitrophenylhydrazin, wie auf S. 183 angegeben, behandelt.

Das Filtrat der Fruktoseverbindung wird nach Kap. VII mit 16 Tr. 40%-Formaldehyd behandelt, und schließlich die Rhamnose-Glukose erhalten. Es sei weiter auf Trennung 10, S. 288, verwiesen, wobei folgendes zu bemerken ist:

ad 2. Phenylosazonbildung ist für Glukose nicht geeignet, weil etwas in Lösung gebliebene Fruktose dasselbe Osazon gibt.

Bemerkung: Weil mir für diese Trennung kein o-Nitrophenylhydrazin mehr zur Verfügung stand, und zurzeit nicht mehr zu beschaffen war, habe ich diese Trennung nicht ausführen

können, um zu sehen, ob Fruktose in diesem Falle sich niederschlägt. Sie wurde auf die Ergebnisse aus Kap. VI aufgebaut.

Methode, speziell für Rhamnose

Wenn die Fruktose und Glukose nachgewiesen worden sind, werden sie in einer anderen Probe mittels Preßhefe bei 35° vergoren (siehe e) der Trennung Arabinose-Glukose auf S. 246).

Rhamnose bleibt und wird nach B. c) S. 239 dieses Kapitels nachgewiesen.

14. d-Glukose, d-Mannose und d-Galaktose

Methode:

Mannose wird als Phenylhydrazon niedergeschlagen; Glukose und Galaktose werden getrennt.

Ein Gemisch von 200 mg jeden Saccharids in 10 ccm W. wurde auf 600 mg Phenylhydrazin einwirken gelassen. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon mit abs. A. gewaschen, aus 60%-A., dann aus W. umkrist. Schmelzpunkt war 199°, der der Mannoseverbindung.

Das Filtrat wurde mit Benzaldehyd nach Kap. VII behandelt, und schließlich die Glukose-Galaktose gewonnen:

1. Galaktose wird mittels 400 mg α-Methylphenylhydrazin und A. zur klaren Lösung, nach S. 166 als Hydrazon erhalten. Eventuell noch eine kleine Menge in Lösung gebliebene Mannose stört. Siehe die Schmelzpunkte in Kap. VI.

Das Filtrat wird mit 16 Tr. Formalin nach Kap. VII behandelt und schließlich die Glukose gewonnen. Ist mindestens ½ g derselben anwesend, so kann sie als zuckersaures Silber nach S. 100 identifiziert werden.

2. Aus der Glukose-Galaktose in 5 ccm 96%-A. wird die Galaktose mittels 400 mg aus wenig W. umkrist. o-Tolylhydrazin als Hydrazon ausgeschieden. Nach Umkristallisieren aus 96%-A., Schmelzpunkt 176°.

Weder Mannose, noch Glukose schlagen nieder.

Glukose wieder wie bei 1.

3. Aus der Glukose-Galaktose wird Glukose, nebst möglich anwesenden kleinen Mengen Mannose nach e) der Trennung Arabinose-Glukose auf S. 246 vergoren. Galaktose bleibt und wird nach B. dieses Kapitels, S. 240, nachgewiesen.

Methode:

Galaktose wird als o-Tolylhydrazon niedergeschlagen; Glukose und Mannose werden getrennt.

Ein Gemisch von 200 mg jeden Saccharids in 400 mg W. wurde mit 6 ccm abs. A. und 600 mg aus W. umkrist. o-Tolylhydrazin während 1/4 St. erhitzt. Nach 24 St. war bei t = 25° nichts kristallisiert. In Eiswasser entstand eine Kristallisation, die nach 24 St. aus 96%-A. umkristallisiert wurde. Schmelzpunkt der Galaktoseverbindung war 174°.

Das Filtrat wurde nach Kap. VII mit 16 Tr. Formaldehyd usw. behandelt, und die Glukose-Mannose gewonnen.

Sie wurden in 10 ccm W. gelöst, mit 400 mg Phenylhydrazin behandelt. Nach dem Filtrieren schieden sich bald Kristalle ab, welche nach 24 St. mit abs. A. gewaschen und aus 60%-A., dann aus W. umkristall. wurden. Schmelzpunkt war 199°, der der Mannoseverbindung.

Glukose wird wieder wie bei 1. Methode der vorigen Trennung identifiziert.

Methode:

Glukose und Mannose können mittels Preßhefe nach e) der Trennung Arabinose-Glukose auf S. 246 vergoren werden. Galaktose bleibt und wird nach B. S. 240 dieses Kapitels identifiziert.

15. d-Glukose, d-Galaktose, und d-Fruktose

Methode:

Galaktose wird als o-Tolylhydrazon nach Kap. VI, S. 206, oder als α-Methylphenylhydrazon nach S. 166 aus einem Gemische von 200 mg jeden Saccharids niedergeschlagen.

Das Filtrat wird mit 16 Tr. 40%-Formaldehyd nach Kap. VII behandelt und schließlich die Glukose-Fruktose gewonnen:

1. Fruktose kann aus der Lösung in 3 ccm 96%-A. mittels 400 mg o-Nitro-phenylhydrazin nach Kap. VI, S. 192, niedergeschlagen werden.

Wenn noch etwas Galaktose beigemischt sein sollte, kann sie ebenso niederschlagen (Schmelzpunkt 177—178°; der Fruktoseverbindung 156—157°).

Im Filtrate kann die d-Glukose nach Formaldehydbehandlung in Kap. VII als zuckersaures Silber nachgewiesen werden, wenn mindestens 1/2 g Glukose vorliegt.

Bemerkung: Diese Trennung mittels o-Nitrophenylhydrazin konnte aus Mangel an Hydrazin zurzeit nicht ausgeführt werden; sie wurde den Ergebnissen in Kap. VI entlehnt.

2. Wenn 1/2 g Fruktose vorliegt, kann sie nach Kap. VI, S. 223, als α-Methylphenylosazon nachgewiesen werden. Glukose ist dann nicht mehr nachweisbar.

3. Wenn mindestens 1/2 g Glukose vorliegt, kann sie nach Kap. IV, S. 100, als zuckersaures Silber nachgewiesen werden. Fruktose ist dann nicht mehr nachweisbar.

Methode:

Wenn Glukose und Fruktose nachgewiesen worden sind, werden sie in einer anderen Probe mittels Preßhefe nach 4. e) der Trennung Arabinose-Glukose vergoren (S. 246). Galaktose bleibt und kann nach B. S. 240 dieses Kapitels nachgewiesen werden.

16. d-Glukose, d-Mannose und d-Fruktose.

Methode:

Mannose wird aus dem Gemische von 200 mg jeden Saccharids aus 10 ccm W. als Phenylhydrazon nach Kap. VI, S. 149, niedergeschlagen.

Aus dem Filtrate wird nach Benzaldehydbehandlung in Kap. VII die Glukose-Fruktose gewonnen, und nach voriger Trennung 15 identifiziert.

Die Gärprobe der vorigen Trennung findet hier natürlich keine Verwendung, weil alle drei vergären.

17. d-Mannose, d-Galaktose und d-Fruktose.

Methode:

Mannose wird als Phenylhydrazon niedergeschlagen; Galaktose und Fruktose werden getrennt.

Ein Gemisch von 200 mg Mannose, 200 mg Galaktose und 500 mg Fruktose in 10 ccm W. wurde kurze Zeit mit 900 mg Phenylhydrazin erhitzt. Bald entstand eine Kristallisation, welche nach 24 St. mit abs. A. gewaschen und aus 60%-A., dann aus W. umkristall. wurde. Schmelzpunkt war 199°, der der Mannoseverbindung.

Nach Benzaldehydbehandlung in Kap. VII wurde die Galaktose-Fruktose erhalten.

1. Nach Lösung in 5 ccm 96%-A. wurde mit 600 mg aus W. umkrist. o-Tolylhydrazin während 1/4 St. erhitzt. Nach 24 St. war wenig auskristallisiert, vermehrte sich aber beim Schütteln und Abkühlen. Nach einigen Stunden wurde das

Hydrazon aus 96 %-A. umkrist. Es war die Galaktoseverbindung mit Schmelzpunkt 176 °.

Das Filtrat wurde mit 20 Tr. Formalin nach Kap. VII behandelt und die schließlich gewonnene Fruktose in 5 ccm W. mit 1 g α-Methylphenylhydrazin, A. zur klaren Lösung und 1 g 50 %-Essigsäure während 5 Minuten im Wasserbade erhitzt. Bei geringer Wasserhinzufügung entstand in Eiskühlung ein Öl, das fast fest wurde. Nach Abgießen der Flüssigkeit wurde die Masse in Chloroform gelöst, mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, filtriert, und das Filtrat mit Petroläther gemischt. Es entstanden braungelbe Kristalle, welche abgesogen wurden. Die Behandlung wurde wiederholt und nach Umkristallis. aus 10 %-A. wurden gelbe Nädelchen erhalten, welche nach abermaligem Umkristallis. bei 145 ° schmolzen. Nach Lösung in 2 ccm 70 %-A. und Mischen mit 12 ccm heißem W., entstanden nach Abkühlen gelbe Kristalle mit Schmelzpunkt 146 °. Aus 20 %-A. war der Schmelzpunkt 150 ° (theor. 161 °—162 °). Die Identifizierung ist bei diesen Mengen mit Schwierigkeiten verknüpft, und ist mehr als ½ g Fruktose anzuwenden.

2. Wenn die Fruktose, und möglich anwesende kleine Mengen Mannose mittels Preßhefe nach 4. e) der Trennung Arabinose-Glukose auf S. 246 vergoren werden, bleibt die Galaktose. Sie kann nach B. S. 240 dieses Kapitels identifiziert werden.

Methode:

Galaktose wird als o-Tolylhydrazon niedergeschlagen, Mannose und Fruktose werden getrennt.

Galaktose-o-Tolylhydrazon wird wie bei voriger Trennung gefällt.

Das Filtrat wird mit Formaldehyd nach Kap. VII behandelt, und schließlich die Mannose-Fruktose in 10 ccm W. mit Phenylhydrazin behandelt, und die Mannose nach S. 149 identifiziert.

Das Filtrat wird nach Kap. VII mit Benzaldehyd behandelt, und die gewonnene Fruktose wie bei 1. der vorigen Trennung nachgewiesen, wenn mehr als ½ g Fruktose vorliegt.

E. Trennung und Identifizierung von Gruppen von mehr als drei Sacchariden.

Für diese Trennungen muß ich auf die Ergebnisse des Kap. VI verweisen, wo die Angaben zu finden sind.

Die zu überwindenden Schwierigkeiten werden hier noch bedeutend größer, wie bei C und D.

Wir verfahren dabei möglichst nach dem Prinzip, Zweizahle zu erhalten, d. h. ein solches Hydrazin aus Kap. VI herauszusuchen, das 2 der Monosaccharide möglichst vollständig niederschlägt. Das Filtrat wird dann weiter auf die anderen Saccharide, nach Benzaldehyd- oder Formaldehydbehandlung zufolge Kap. VII verarbeitet. Achtung auf möglich noch beigemischte Saccharide der ersten Zweizahl. Mit dem erhaltenen Hydrazon der zwei niedergeschlagenen Monosaccharide wird ebenso gehandelt, und mit der erhaltenen Zweizahl nach C. dieses Kapitels verfahren.

Übrigens sei auf die Bemerkungen bei C. und D. verwiesen.

Kapitel IX

Analysengang eines Glukosids und dergleichen Substanzen

Bemerkungen:

Ein Monosaccharidgemisch kann als solches, also von vornherein im freien Zustande vorliegen, oder kann bei der Hydrolyse von Glukosiden, Polysacchariden usw. entstanden sein, im allgemeinen von monosaccharidabspaltenden Körpern, welche überdies neben anderen Substanzen die in den vorigen Kapiteln behandelten Säuren abspalten können.

Während bei der Hydrolyse mit verdünnten Säuren schließlich die Endprodukte, die Monosaccharide und Aldehydsäuren usw., entstehen, kommt es bei Enzymwirkung öfter vor, daß sich zusammengesetzte Saccharide bilden, welche von dem Enzym nicht weiter gespalten werden. Es ist dann erforderlich, mittels Hydrolyse mit verdünnten Säuren einzugreifen, um sie in die Endmonosaccharide zu verwandeln.

Wir wollen nun für die acht genannten Monosaccharide und für die Säuren, an Hand der in den vorigen Kapiteln enthaltenen Resultate, einen Analysengang ausarbeiten.

Um die Auffindung von Substanzgruppen und Substanzen gewissermaßen nicht dem Zufall zu überlassen, ist ein regelmäßiger Analysengang unbedingt erforderlich. Da das bei sehr zusammengesetzten Körpern sofort einleuchten wird, ist es leicht einzusehen, daß das ebenso der Fall ist bei einfach zusammengesetzten Körpern, erstens, weil man nicht im voraus weiß, welche Substanzgruppen vorliegen, und zweitens, weil man sich davon zu überzeugen hat, daß bei Auffindung einer Substanz, nicht andere überschlagen worden sind.

Weil fortwährend auf vorige Kapitel hingewiesen werden wird, ist es möglich, diesen Analysengang in knapper Form wiederzugeben, und dabei stets auf möglich vorkommende neue Substanzen acht zu geben. Es ist für phytochemische, sowie für jede andere

chemische Untersuchung erforderlich, nach Vollständigkeit zu streben, weil man nur dadurch imstande ist, die erheblichen Schwierigkeiten zu beseitigen, jedenfalls die größte Aussicht eröffnet wird, die uns gestellte Aufgabe in befriedigender Weise zu lösen.

Um zu diesem Ziele zu gelangen, wollen wir uns, als extremen Fall, ein Glukosid denken, von welchem angenommen wird, alle acht Monosaccharide und die genannten Säuren abspalten zu können.

In den meisten Fällen wird ein Glukosid usw. nur einige Monosaccharide oder Säuren abspalten, zu einer oder zu mehreren Gruppen gehörend, oder im einfachsten Falle nur ein Monosaccharid oder eine Säure. Sie fallen aber jedenfalls innerhalb des „extremen“ Falles. Doch können wir uns der Ansicht nicht verschließen, daß auch derartige einfache Fälle uns schon Schwierigkeiten bereiten können.

Zur Demonstrierung etwas verwickelter Fälle, wie sie bei Saponinen usw. öfter vorkommen, werden in Kap. X die Untersuchung der Spaltungssaccharide und -Säuren des Aprikosenbaumgummis, des Kastaniensaponins und des Traganthgummis behandelt, zu gleicher Zeit als eine Demonstrierung des in diesem Kapitel verfaßten Untersuchungsganges.

A. Voruntersuchung

In dem auf irgend einer Weise erhaltenen Glukosid usw., dessen Molekulargewicht, empirische Formel usw. festgestellt werden kann, wenn es in chemischer Reinheit vorliegt, wird eine

I. Wasserbestimmung

gemacht, nämlich eine Bestimmung von Adhäsionswasser bei 30—50°, eine von Kristallwasser bei 105° und eine bei etwa 150°, wenn das Glukosid letztere Temperatur vertragen kann. Diese letzte Bestimmung ist erforderlich, weil es Glukoside gibt, z. B. α-Hederin aus Efeublättern, welches das zweite Molekül Wasser erst bei 150° abgibt.

Bei der Adhäsionswasserbestimmung, welche übrigens nur eine geringe Menge Wasser geben wird, kann es vorkommen, daß schon Kristallwasser entweicht. Das ist in der Regel bei den erhaltenen Werten zu beobachten. In diesem Falle ist es besser, den aufgefundenen Wert als „Kristallwasser“ in Rechnung zu

bringen. Bei „amorphen“ Substanzen ist es besser, von „Konstitutionswasser“ statt von „Kristallwasser“ zu reden.

Die Wasserbestimmung kann mit 1/4 g Glukosid ausgeführt werden.

2. Aschebestimmung

Diese geschieht in dem bei der Wasserbestimmung erhaltenen Trockenrückstand. Sie wird in der Weise ausgeführt, wie bei Aschebestimmung gebräuchlich, und in verschiedenen Werken beschrieben ist.

Die Berechnung geschieht auf wasserhaltende Substanz.

3. Qual. Pentosen- (inkl. die Säuren) und Methylpentosennachweis

Hierfür schlage man den qualitativen Teil des dritten Kapitels nach, wo ausführlich behandelt ist, wie beide nachgewiesen werden können.

Es kann vorkommen, daß die Pentosenreaktionen, oder die Methylpentosenreaktionen negativ ausfallen, wenn das Verhältnis für die betreffenden Substanzen dafür zu ungünstig ist. Es kann aber vorkommen, daß diese kleine Mengen erst bei der quantitativen Bestimmung zutage treten.

Verlaufen die Pentosen- und Methylpentosenreaktionen positiv, gleichgültig von welchen Substanzen sie verursacht worden sind, oder zweifelhaft, oder sogar negativ, so gehen wir zu der Bestimmung der Mengen Furfurol- und Methylfurfurolphlorogluzid, welche bei der Bestimmung entstehen können, über.

4. Quant. Bestimmung der Mengen Furfurol- und Methylfurfurolphlorogluzid

Die Bestimmung wird mit etwa 1 g des Glukosids nach dem quantitativen Teil des Kap. III ausgeführt, und das erhaltene Phlorogluzid gewogen.

Dieses Phlorogluzid wird nach S. 68 mit absolutem Alkohol behandelt, zur Entziehung eventuell anwesenden Methylfurfurolphlorogluzids. Das zurückgebliebene Furfurolphlorogluzid wird getrocknet und gewogen. Aus dem Gewichtsverluste ist der Ellettschen Tabelle die Menge Rhamnose (S. 82), der Mayerschen (S. 83) die Menge Fukose zu entnehmen. Später, bei weiterer Untersuchung nach der Gegenwart der einzelnen Methylpentosen wird sich herausstellen, welche Tabelle wir benutzen müssen, oder falls eine andere Methylpentose vorliegt, diese vorläufig als „Rhamnose“ oder als „Methylpentose“ berechnen.

Die Menge Pentose aus der aufgefundenen Menge Furfurolphlorogluzid zu berechnen, ohne uns von der Ab- oder Anwesenheit der genannten Säuren zu überzeugen, würde einen großen Fehler verursachen können. Das stetige einfach als „Pentose" Berechnen möge bei konventionellen technischen Analysen gestattet sein, bei wissenschaftlichen Untersuchungen ist das als eine veraltete Gewohnheit, welche verlassen werden soll, aufzufassen.

Wir notieren also vorläufig die aufgefundenen Mengen Furfurol- und Methylfurfurolphlorogluzid aus 1 g Glukosid und schreiten zur

5. Quant. Bestimmung der Säuren

Wir bestimmen in 1 g Glukosid die Menge Kohlensäure, welche nach der Lefèvreschen Methode, mit etwas abgeänderter Apparatur in Kap. III, Quant. Teil, e), S. 71 wiedergegeben, erhalten wird.

Ohne Ausführung dieser Bestimmung können wir uns keine Sicherheit über das Gewichtsverhältnis von Pentosen und Säuren verschaffen, und das ist doch gerade wichtig. Siehe weiter f), g) und h) auf S. 75 u. 76.

Nach der Lefèvreschen Formel (S. 71) korrespondiert die aufgefundene Menge Kohlendioxyd mit der 4-fachen Menge von Glukuronsaurem Lakton, und nach ihrer Zusammensetzung ebenso mit der 4-fachen Menge d-Galakturonsaurem Lakton und Aldehydschleimsaurem Lakton.

Wir erfahren also nicht nur die Menge anwesender Säuren, sondern, weil 3 Teile Glukuronsaures Lakton nach Lefèvre (S. 71) mit einem Teile Furfurolphlorogluzid übereinstimmen, können wir durch Abzug dieser Furfurolphlorogluzidmenge von der der Pentosanbestimmung nach 4, die Menge Furfurolphlorogluzid, welche den Pentosen entstammt, herausfinden.

Nachher, wenn sich herausgestellt hat, welche Pentosen vorliegen, können wir aus der Kröberschen Tabelle (S. 77) aufsuchen, mit welcher Menge Arabinose oder Xylose das übereinstimmt. Eine andere Pentose wird vorläufig als Arabinose oder als „Pentose" berechnet.

Hier liegt also der extreme Fall vor, daß Pentosen, Methylpentosen und Säuren vorkommen; es ist leicht zu ermitteln, wie wir zu verfahren haben, wenn eine oder mehrere Gruppen fehlen. Fehlen die Pentosen z. B., so kann die Pentosanbestimmung als

eine Kontrolle auf die Bestimmung der Säuren nach der CO_2-Methode dienen.

Nachher wird sich herausstellen, mit welcher Säure wir zu tun haben. Es braucht nicht stets eine Säure der Glukuronsäuregruppe zu sein, welche CO_2 nach der Lefèvreschen Methode gibt. Bei Kastaniensaponin z. B. lag eine andere Säure vor. Wir sind jedoch bei dieser Bestimmung auch anderer Säuren sicher.

6. Nachweis der Glukuronsäuregruppe

Wenn nach 5. Säuren abgespalten worden sind, haben wir zu ermitteln, ob die Glukuronsäuregruppe vorliegt.

Dabei verfährt man am besten wie folgt[1]):

1. 1 g Substanz wird mit 10 ccm 5%iger Schwefelsäure (wenn nötig, unter Hinzufügung von Alkohol oder mit 2%iger Schwefelsäure im Autoklaven bei 130°, weil manche Glukuronsäure usw. abspaltenden Substanzen sich schwer spalten) hydrolysiert. Die trübe Flüssigkeit wird mit Barytwasser auf Kongorot (nach der Tüpfelmethode) neutralisiert, filtriert, der Niederschlag ausgewaschen und das Filtrat auf einige ccm auf dem Wasserbade eingeengt. Nach Abkühlung wird ein geringes Übermaß normalen Bleiazetats zugegeben, filtriert, und das Filtrat mit basischem Bleiazetat versetzt. Nach 24 St. wird auf einem Saugfilter gesammelt und der Niederschlag mit Wasser ausgewaschen. Dieser Niederschlag wird in 10 ccm 19%iger Salzsäure gelöst, mit mindestens 100 mg Naphthoresorcin während 1 Minute in gelindem Sieden gehalten, einige Minuten gewartet und die Flüssigkeit bei etwa 50° mit 5—10 ccm Benzol tüchtig ausgeschüttelt. Das abgetrennte, nötigenfalls mittels wasserfreien Natriumsulfats geklärte Benzol ist im positiven Falle violett gefärbt und erzeugt alsdann einen dunklen Streifen auf D im Spektralapparate.

Siehe weiter Kap. I, S. 19.

Es kann jedoch vorkommen, besonders bei d-Galakturonsäure, wie es scheint, daß die Reaktion negativ ausfällt, auch wenn viel Galakturonsäure vorliegt, wie ich bei Traganthgummi erfuhr (siehe Kap. X). Das scheint von einer begleitenden Substanz verursacht zu werden. Diese konnte durch starken Alkohol aus dem Sirup entfernt werden. Wenn also obenstehende Reaktion negativ ausfällt, dürfen ohne weiteres daraus noch keine Schlüsse gezogen

---

[1]) A. W. van der Haar, Über d. Nachweis der d-Glukuronsäure usw. Bio. 88, 211 (1918).

werden. Es ist alsdann besser, die Reaktion mit der mittels Alkohol ausgekochten Baryumkarbonatmasse zu wiederholen, aus welcher dann das Baryumsalz mittels Wasser ausgezogen wird. Die Säure wird mit verdünnter Schwefelsäure in Freiheit gesetzt (bis im Filtrate noch wenig Baryumsalz anwesend ist). Nach Vorbehandlung mit norm. Bleiazetat wird mit bas. Bleiazetat gefällt usw., und wie oben die Reaktion angestellt.

Es scheint bei Galakturonsäure das Benzol schwieriger violett zu färben als bei Glukuronsäure, denn es mußte öfter erhitzt und geschüttelt werden.

2. Einer Lösung eines oder mehrerer Tropfen des Hydrolysesirups in 1 ccm Wasser werden einige ccm Fehlingscher Lösung hinzugegeben.

Wenn die Säuren vorliegen, tritt bei gewöhnlicher Temperatur fast sofort eine beginnende Reduktion auf. Keins der Monosaccharide verursacht das; Fruktose schwach nach $^1/_2$ bis 1 Stunde; die anderen noch nicht (siehe S. 22).

Bei Kastaniensamensaponinsaccharide trat ebenso sofort Reduktion ein, nicht von der Glukuronsäuregruppe, sondern von einer anderen Substanz verursacht.

3. Wenn Säuren vorliegen, reagiert die sirupöse Masse in Lösung auf Lackmuspapier deutlich sauer, nicht auf Kongopapier.

4. Siehe weiter S. 22.

7. Qual. Hexosennachweis

Hierfür lese man Kap. IV, Qual. Teil, wo die Angaben zu finden sind. Hydrolyse usw., Behandlung mit $BaCO_3$ usw.

8. Quant. Hexosen- und Galakturonsäurebestimmung

Hierfür wird für ausführlicher auf Kap. IV, Quant. Teil verwiesen, wo die Methoden, die Berechnungen ausführlich behandelt und Beispiele angegeben worden sind.

1 g Glukosid wird völlig hydrolysiert usw. und die vorbereitete Flüssigkeit steril auf 10 ccm aufgefüllt.

Mit $^1/_2$ ccm wird im „Lohnsteinschen“ Apparate die Menge Glukose + Fruktose + Mannose bestimmt.

Mit 1 ccm wird im „van Iterson-Kluyverschen“ Apparate die Menge Glukose + Fruktose + Mannose + Galaktose bestimmt.

Die Differenz in % = Galaktosemenge. Siehe über die Anstellung eines Parallelversuches mit einer bestimmten

Menge Galaktose die Schlußbetrachtung am Ende des Kap. IV, S. 118.

In 5 ccm wird nach der Schleimsäuremethode auf S. 123 die Menge Schleimsäure gefunden und daraus die Menge Galaktose der Tabelle entnommen. (Bei der Schleimsäuremethode also wieder mit Saccharose auf 1 g Saccharid anfüllen und Tabelle II benutzen, siehe auch Kap. X.)

Die gefundene Menge soll mit der nach „van Iterson-Kluyver" stimmen, weil die Galakturonsäure bei der Methode als Baryumsalz in der Baryumkarbonatmasse zurückbleibt.

Wenn wir nun aufs neue wieder in 1 g Substanz nach der Hydrolyse und Vorbereitung wie oben, jedoch Neutralisierung mit reinem Baryt auf Kongopapier (die Säuren also in Freiheit) die Menge Schleimsäure bestimmen, so erhalten wir diese Menge aus Galaktose + Galakturonsäure. Stimmt die daraus gefundene Menge Galaktose mit der der Gärungsmethode, so haben wir den Beweis, daß keine Galakturonsäure abgespalten worden ist. Stimmt sie nicht, so können wir ungefähr berechnen, wieviel Galakturonsäure vorliegt, das dann wieder mit der nach der CO_2-Methode gefundenen Menge stimmen soll, wenn keine Glukuronsäure oder andere Säuren vorliegen.

Siehe weiter Kap. X.

Es ist leicht zu ermitteln, wie die Sachlage sich verhalten wird, wenn eine oder mehrere Hexosen oder Säuren fehlen.

9. Quant. Bestimmung des Nicht-Saccharidrestes (Aglukon)

Bei der Hydrolyse der Glukoside (siehe weiter bei B.) entsteht immer ein Nicht-Saccharidrest, dessen Bestimmung sich oft nach jedem besonderen Fall zu richten hat.

Bei einer großen Gruppe von Glukosiden, den Saponinen, entsteht ein in Wasser praktisch unlöslicher oder schwerlöslicher Körper — das Sapogenin oder öfter die Sapogenine —, welche nach Auswaschung und Trocknung gewogen werden.

Bei anderen Glukosiden wieder entsteht ein Rest, der in der saccharidhaltigen Flüssigkeit gelöst bleibt, z. B. bei Arbutin. Er kann durch Ausschüttelung mittels Äthers oder einer anderen flüchtigen, sich nicht mit Wasser mischenden, Saccharide nicht lösenden Flüssigkeit ausgeschüttelt werden und nach Verdampfung zur Wägung gebracht werden.

Die Möglichkeit besteht ebenso, daß bei der Hydrolyse ein flüchtiges Produkt auftritt, das in irgend einer Weise, abhängig von seiner Natur bestimmt werden muß. Schließlich können sich Substanzen bilden, die in Wasser gelöst bleiben und nicht ausschüttelbar sind.

Diese Bestimmungen, außer denen der Sapogenine, werden nach jedem besonderen Fall einzurichten sein, und sind von dem Untersucher diesem anzupassen.

Nach der Ausführung obenstehender Bestimmungen wissen wir also den %-Gehalt an Wasser, Asche, Pentosen, Methylpentosen, Aldehydsäuren, Glukose + Fruktose + Mannose, Galaktose, dem Nicht-Saccharidrest und flüchtigen Produkten.

Das ist mit Aufopferung möglichst weniger Substanz erhalten worden.

Die Summe dieser Bestimmungen soll etwas mehr als 100% betragen, weil die Hydrolyse unter Wasseraufnahme verläuft. Wir haben hiermit also eine Kontrolle auf die An- oder Abwesenheit noch unbekannt gebliebener Substanzgruppen.

Bei Saponinen ist von mehreren Untersuchern oft erheblich weniger als 100% aufgefunden worden, und wurde dann oft, um dieses zu wenig anzufüllen, von flüchtigen Produkten geredet, ohne die geringsten Beweisgründe dafür beizubringen, oder aus diesem Grunde, daß bei der Hydrolyse oft ein eigentümlicher Geruch auftrete, ein Geruch, der von Spuren Furfurol herrührt, aus Pentosen, die bei der Hydrolyse sich in geringem Grade unter Furfurolbildung zersetzen.

Die Ursache eines erheblichen Zuwenigs wird aber in sehr vielen Fällen der stiefmütterlichen Behandlung der Saponine zuzuschreiben sein, weil keine systematische Untersuchung unternommen wurde, oft den öfter vorkommenden Aldehydsäuren keine Rechnung getragen, und ihr Furfurolprozentgehalt einfach als Pentose berechnet wurde, wodurch ein so großer Fehler verursacht wurde, daß kein Vergleich mehr möglich war. Weiter eine sehr unvollständige Untersuchung der Spaltungssaccharide angestellt war, ferner nicht immer auf vollständige Hydrolyse untersucht wurde, wie ich z. B. bei Hederin und bei Kastaniensaponinen erfuhr. Schließlich war oft den Methylpentosen keine Rechnung getragen, und wurden diese als Pentose berechnet (siehe Kap. X).

Es kommt jedoch vor, daß mit Wasserdampf flüchtige Säuren in geringen Mengen auftreten, z. B. bei Kastaniensaponinen bestimmte ich sie auf etwa 3 %, willkürlich auf Essigsäure berechnet. Aus den anderen von mir ausführlich untersuchten Saponinen erhielt ich kein flüchtiges Produkt, und kam ich mit den Sacchariden + Sapogeninen über 100 %, z. B. bei Polyscias-Saponinen: Glukose 37,6 %, Arabinose 33 %, Sapogenine 35,1 %, zusammen etwa 105 %. Bei α-Hederin: Arabinose 19 %, Rhamnose 19 %, α-Hederagenin 65,8 %, zusammen etwa 103,8 % (siehe meine Diss. a. a. O.). (Verbessert 16,8 % Arabinose, 21 % Rhamnose.)

Sollte sich gegebenenfalls ungeachtet aller Fürsorgen für die Ausführung und gewissenhafter Untersuchung ein erheblich zu geringer Prozentgehalt an Spaltungsprodukten herausstellen, so ist auf flüchtige Produkte zu fahnden. Wenn sie saurer Natur sind, manifestieren sie sich übrigens schnell.

B. Hydrolyse des Glukosids

Nach der Voruntersuchung wollen wir dem Wege der Hydrolyse mittels verdünnten Säuren, speziell Schwefelsäure, folgen, um in größerem Maßstabe die Monosaccharide und Säuren, und den Nicht-Saccharidrest zu erhalten[1]).

Das erhaltene Saccharidgemisch ist als ein mehr oder weniger verunreinigtes der reinen Substanzen zu betrachten.

Das Glukosid wird durch verdünnte Schwefelsäure hydrolysiert. Es hängt von der Natur der Substanz ab, ob 1 %-, 2 %- oder 5 %-Schwefelsäure in W. oder in 45 %-A. angewandt und wie lange hydrolysiert werden soll, wenn nur dafür gesorgt wird, daß die Hydrolyse vollständig sei. Bei Kastaniensaponinen war es erforderlich zuerst mit 5 % wässeriger, dann mit 5 % alkoholischer Schwefelsäure (45 %-A.), schließlich, um letzte Spuren reduzierender Substanz abzuspalten, mit 5 %-Salzsäure in 70 %-A., jede während 6 St. zu hydrolysieren. In anderen Fällen, z. B. bei Euxanthinsäure wieder, wird man sich der Hydrolyse bei 130 bis 150° im Autoklaven, mit etwa 1—2 %iger Schwefelsäure zu bedienen haben.

Wenn ein Glukosid der vollständigen Hydrolyse mittels wässeriger Schwefelsäure stark Widerstand bietet, so ist das oft als ein Hinweis auf die Gegenwart genannter Säuren zu betrachten.

---

[1]) Bei der „Voruntersuchung“ hatten wir das schon zu bestimmen.

Bei in Wasser unlöslichen Glukosiden, z. B. dem kristallinischen Saponin α-Hederin gelang die Hydrolyse mittels verdünnter Schwefelsäure durch abermalige Hydrolyse des bei erster Hydrolyse während 6 St. erhaltenen Produktes.

Jedenfalls hat man sich bei einer Probe davon zu überzeugen, wie und wann vollständige Hydrolyse zu erzielen ist. Das wird oft übersehen, wie uns die Literatur lehrt.

Man tut gut, um unnötigen Verlusten an Saccharid vorzubeugen, die Hydrolyse mit wässeriger 2- oder 5 %iger Schwefelsäure möglichst weit durchzuführen, bevor zur Hydrolyse mit alkoholischer Schwefelsäure geschritten wird. Meistens wird mit 2 %iger Schwefelsäure schon die weitaus größte Menge Saccharid erhalten. Wenn nun die Art und Dauer der Hydrolyse festgestellt ist, wird die in größerem Maßstabe erhaltene Flüssigkeit, alkoholfrei oder von Alkohol befreit, nach 24 St. filtriert. Das abfiltrierte Sapogenin wird vollkommen ausgewaschen und zur weiteren Untersuchung aufbewahrt. Der event. anwesende, lösliche Nicht-Saccharidrest wird durch Ausschüttelung usw. entfernt.

Vorbereitung der Hydrolyseflüssigkeit

Wir können hierbei auf zwei Weisen verfahren:

I. Absättigung mit Baryumkarbonat

Diese Methode ist auf alle Fälle anwendbar und ist als die weitaus beste zu bezeichnen, also anwendbar, wenn Monosaccharide und Säuren vorliegen.

Die Flüssigkeit wird mit einem geringen Übermaß reinen Baryumkarbonats auf dem Wasserbade, im Vakuum oder jedenfalls unter fortwährender Drehbewegung zur Trockne verdampft. Die Säuren liegen also als Baryumsalz vor.

Die erhaltene Masse wird einige Male mit 90 %igem Alkohol ausgekocht und jedesmal scharf abgesaugt. Die alkoholische Flüssigkeit, welche alles Saccharid und nur sehr wenig Baryumsalz der Säuren enthält, wird zur Sirupdicke eingedampft. Die Baryumkarbonatmasse, welche die Säuren als Baryumsalze enthält, wird aufbewahrt.

Der Sirup wird wieder mit 95 %-A. gekocht, um Baryumsalz usw. zu entfernen, filtriert, mit reiner Tierkohle entfärbt und nach Filtration und Eindampfen wieder als dicker Sirup er-

halten; jetzt liegt er meistens lichtgelb oder fast farblos vor. Er wird für später aufbewahrt und enthält praktisch nur die Saccharide.

Der zurückgehaltenen, trocknen Baryumkarbonatmasse werden die Baryumsalze der Säuren mittels Wassers entzogen. Die filtrierte Flüssigkeit wird mit verdünnter Schwefelsäure behandelt, bis eine filtrierte Probe mit Schwefelsäure noch eine geringe Menge Baryumreaktion gibt, also noch kein Übermaß Schwefelsäure anwesend ist. Die Flüssigkeit wird am besten im Vakuum zum Sirup eingedampft, sofort dieser einige Male mit 95 %-, dann mit 90 %-A. ausgekocht, dann mit Tierkohle entfärbt, und nach Filtration wieder zum Sirup eingedampft. Dieser saure Sirup wird gleichfalls für seine Untersuchung aufgehoben.

Der große Vorteil dieser Methode ist, daß Saccharide und Säuren getrennt sind, und viel weniger Zersetzungen und Verfärbungen auftreten.

Wir werden sie in Kap. X benutzen.

2. Absättigung mit Baryumhydroxyd

Diese Methode kann am besten dann dienen, wenn nur Säuren vorliegen.

Die Flüssigkeit wird mit heißer Barytlösung aus reinem Baryt behandelt, bis Kongopapier gerade nicht mehr gebläut wird (auf Lackmuspapier ist die Reaktion also sauer). Dann wird noch etwas Schwefelsäure oder etwas Barytlösung zugegeben, bis eine filtrierte Probe mit Schwefelsäure noch wenig Baryumsalz aufweist. Weiter wird gehandelt, wie bei den Säuren aus der Baryumkarbonatmasse von 1 angegeben worden ist.

Die Methode ist auch anwendbar, wenn neben den Säuren die Monosaccharide vorkommen, ist aber weniger geeignet, weil beide nicht voneinander getrennt werden, was bei der Untersuchung größere Schwierigkeiten bietet.

Im allgemeinen behandle man nicht viel Substanz auf einmal.

Daß diese Säuren, obschon oft vorkommend, erst später entdeckt wurden, wird größtenteils dadurch verursacht sein, daß man stets mit Baryumkarbonat eindampfte. Die saure Reaktion ist verschwunden, und die Säuren entzogen der Beobachtung, weil die mit Alkohol ausgezogene Baryumkarbonatmasse weggeworfen wurde.

3. Weitere Vorbereitung der Sirupe

Wenn die Säuren vorliegen, sind die Sirupe meistens dunkler gefärbt. Je besser die Saccharide gereinigt und entfärbt werden, desto größer ist die Aussicht, daß die Hydrazon- und Osazonkristallisierungen, also die Identifizierung, gelingen.

Die möglichst weit fortgesetzte Reinigung ist also von sehr großer Bedeutung und es ist erforderlich, hierauf unsere volle Aufmerksamkeit zu lenken.

Besonders Polysaccharide wie Gummis, Pflanzenschleime, Fukuszellwände und dergleiche Substanzen geben bei der Hydrolyse oft stark durch sogenannte „gummöse" Substanzen verunreinigte und dunkelgefärbte Sirupe. Diese „gummösen" Substanzen können durch wiederholte Behandlung mit starkem Alkohol größtenteils entfernt werden, wobei die Saccharide, obschon selber in starkem Alkohol schwerlöslich, durch Einflüsse unter sich, in Lösung bleiben. Immerhin besteht die Möglichkeit, daß ein Teil der Saccharide und Säuren mit entfernt werden, also soll vorsichtig vorgegangen werden.

Nach Widtsoe (Diss. a. a. O. S. 14) können kleinere Mengen des Sirups, z. B. 10 g, durch Schütteln mit dem 5-fachen Volumen Azeton und 95%-Alkohol (1 : 2) weiter gereinigt werden. Auch Alkohol und Äther können vorteilhaft benutzt werden.

Im allgemeinen ist es ratsam, nicht nur kleinere Mengen des Sirups auf einmal in Arbeit zu nehmen, sondern dafür Sorge zu tragen, daß die Reinigung allmählich verläuft, aber öfter wiederholt wird, weil sonst zuviel Saccharid verloren gehen kann.

Saponine geben oft ziemlich verunreinigte Sirupe, besonders jene Saponine, welche die Säuren abspalten.

Einfacher gebaute Glukoside geben meistens wenig verunreinigte, schnell kristallisierende Sirupe.

Es kommt denn auch oft vor, daß der Sirup nicht kristallisiert. Um zur Kristallisation, sei es auch einer teilweisen, zu gelangen, kann der Sirup während geräumiger Zeit in einen Exsikkator hingestellt werden, in welchem er aber meistens zu einer zähen Masse austrocknet, weil die günstigsten Bedingungen von Wassergehalt überschritten werden. In diesem Zustande wird er aus dem Exsikkator herausgenommen und unter loser Bedeckung während einiger Zeit der Luft ausgesetzt. Er nimmt etwas Feuchtigkeit zu sich, ver-

flüssigt sich schwach und befindet sich jetzt in der günstigsten Bedingung für die Kristallisation. Es kann auch von Vorteil sein, den Sirup abwechselnd in den Exsikkator und an die Außenluft zu bringen in dünner Schicht. Oft tritt dann noch keine Kristallisation bei längerem Warten ein, und wenn dies doch der Fall sein sollte, ist sie unvollständig, jedoch von großer Bedeutung. Oft kristallisiert eins der Bestandteile teilweise aus, und kann durch scharfes Absaugen und Nachwaschen mit starkem Alkohol von der Mutterlauge getrennt werden. So gelang es mir z. B. bei Hederinsacchariden (a. a. O.) die Arabinose zum größten Teile von der Rhamnose zu trennen. Bei Kastaniensaponinensacchariden kristallisierte einmal d-Glukose aus, ein anderes Mal eine Säure (siehe Kap. X). Bei Traganthsacchariden kristallisierte nach längerem Stehen etwas Xylose aus (siehe Kap. X). Bei anderen Saponinensacchariden, wie Polyscias- (a. a. O.), Aralia- und Medicagosaponinensacchariden kristallisierte nichts aus.

Je mehr wir unsere Geduld auf die Probe stellen, also je länger wir abwarten, es sei absichtlich oder durch Umstände, destomehr besteht die Aussicht auf Kristallisierung.

Um diesen Prozeß zu beschleunigen, werden kleine Tröpfchen des Sirups mit verschiedenen Sacchariden geimpft, wie z. B. Ulander[1]) unter dem Mikroskope angab. Wir müssen aber nicht erwarten, daß stets das Saccharid, mit welchem geimpft wurde, auskristallisiert. Ulander (a. a. O.) z. B. impfte mit d-Galaktose, erhielt aber eine d-Glukosekristallisierung. So erhielt ich einmal bei Kastaniensaponinensacchariden nach Impfung mit d-Glukuronsäurelakton die Kristallbildung einer anderen Säure, die merkwürdigerweise denselben Schmelzpunkt (175°) hatte (siehe Kap. X).

Ob wir aber teilweise Kristallisierung, falls mehrere Saccharide vorliegen, abwarten oder nicht, stets soll ein regelmäßiger Analysengang Anwendung finden, damit keine Gruppe überschlagen wird.

Weiter ist es ratsam, noch einmal mit dem erhaltenen Sirupe oder Kristallen zu untersuchen, welche Substanzgruppen vorliegen, wie das bei der Voruntersuchung geschah, zur näheren Bestätigung der dort erhaltenen Resultate. Das bedeutet nur wenig Substanzaufwand.

---

[1]) Ulander, Untersuchungen über die Kohlenhydrate der Flechten. Diss., Göttingen 1905.

C. Nähere Untersuchung der erhaltenen Monosaccharide und Säuren

I. Abwesenheit der Glukuronsäuregruppe und anderer Säuren

In diesem Falle ist die quant. Pentosanbestimmung eine reine Pentosenbestimmung, die Zuckersäurereaktion typisch für d-Glukose und die qual. und quant. Schleimsäurebestimmung typisch für d-Galaktose.

Es dienen die gereinigten Saccharide aus der Baryumkarbonatmasse ausgekocht, nach B. dieses Kapitels.

Bemerkung:

Es wird darauf hingewiesen, daß folgender Analysengang, wie bekanntlich jeder organischer Analysengang, nicht allzu mechanisch aufgefaßt werden muß. Die Verhältnisse der Saccharide unter sich können vielfach variieren und es kann daher nötig sein, hie und da in verwickelten Fällen etwas abzuändern, wofür aber auch die vorigen Kapitel, und besonders die „Voruntersuchung", genügend Anhaltspunkte verschaffen.

1. Bei der Voruntersuchung bestimmte Anwesenheit nur von Pentosen

Arabinose und Xylose können vorliegen. Für ihre Identifizierung und Trennung siehe Kap. VIII, C. 1., S. 242.

2. Bei der Voruntersuchung bestimmte Anwesenheit nur von Methylpentosen

Rhamnose und Fukose können vorliegen. Für ihre Identifizierung und Trennung siehe Kap. VIII, C. 14., S. 259.

3. Bei der Voruntersuchung bestimmte Anwesenheit nur von Hexosen

d-Glukose, d-Mannose, d-Fruktose und d-Galaktose können vorliegen.

Mit einer Menge der sirupösen Saccharide, die mit mindestens 1 g Saccharid übereinstimmt, wird in einem selben Versuche die Zuckersäurereaktion auf d-Glukose und die Schleimsäurereaktion auf d-Galaktose nach Kap. IV, qual. Teil d und e, S. 100 u. 103 ausgeführt.

Für den Fruktosenachweis werden die Ketosenreaktionen nach Kap. IV, qual. Teil b und c, S. 86 u. 90, ausgeführt, und mehr spezifisch auf d-Fruktose der Nachweis als α-Methylphenylosazon nach Kap. VI, B. d), S. 222.

Nach d-Mannose wird gesucht mittels des für Mannose charakteristischen Phenylhydrazin in wässeriger Lösung nach Kap. VI, A. a) 6., S. 149 und Kap. VIII, A. 1., S. 231.

Es hat sich übrigens bei der Voruntersuchung schon herausgestellt, welche Hexosengruppen vorkommen. In manchen Fällen wird sich herausgestellt haben, daß nicht alle Hexosen nebeneinander vorkommen, für diese Fälle wird nach Kap. IV, VI und VIII (hier Zwei- und Dreizahle) gehandelt.

Nehmen wir den extremen Fall, daß alle 4 Hexosen vorkommen, so wird d-Mannose aus verdünnt-wässeriger Lösung der Saccharide, als Phenylhydrazon in 24 St. nach Kap. VI, A. a) 6., S. 149 niedergeschlagen und identifiziert. Durch Abkühlung usw. hat man zu versuchen, eine möglichst vollständige Ausscheidung zu erhalten.

Im Filtrate, ohne Waschwasser, wird Galaktose als α-Methylphenylhydrazon nach Kap. VIII, C. 26. a), S. 270 zur Abscheidung gebracht und identifiziert. Besser zu empfehlen ist das o-Tolylhydrazon, welches nur für Galaktose typisch ist. Hierzu wird das Filtrat des Mannosehydrazons nach Kap. VII mit Benzaldehyd zersetzt usw. Der erhaltene Sirup wird mit o-Tolylhydrazin nach Kap. VIII, C. 26. b), S. 271 behandelt.

Die Filtrate beider werden nach Kap. VII mit Formaldehyd behandelt, und schließlich der erhaltene Glukose-Fruktosesirup nach Kap. VIII, C. 25., S. 269 identifiziert. Hierbei ist jedoch folgendes zu bemerken:

Wenn noch etwas Mannose und Galaktose in Lösung geblieben sein sollte, so können sie nach 25 a), als o-Nitrophenylhydrazon neben Fruktose niederschlagen. Siehe für die Schmelzpunkte Kap. VI.

Weiter kann noch folgendes in Betracht gezogen werden:

Mit Preßhefe werden Glukose, Fruktose, und Mannose bei 35° in 2 St. vergoren, wobei man nicht versäume die Bemerkung auf S. 246 bei der Trennung 4. e) von Arabinose-Glukose zu lesen. Galaktose bleibt und wird nach der Reinigung nach Kap. VIII, B. g), S. 240 identifiziert.

Die Hexosen, welche als reine Hydrazone erhalten worden sind, können nach Kap. VII einzeln erhalten werden, und ihre weitere Konstante usw. festgestellt werden. Das gilt natürlich für alle hier zu nennenden Fälle.

Auch kann Kristallisation abgewartet werden, wie schon hervorgehoben wurde.

4. Bei der Voruntersuchung bestimmte Anwesenheit von Pentosen + Methylpentosen

Arabinose, Xylose, Rhamnose und Fukose können vorliegen.

Es gilt hier im allgemeinen das bei 3. Geschriebene. Für einfache Fälle siehe die Zwei- und Dreizahle in Kap. VIII.

In der Annahme, daß alle 4 vorkommen, wird das Gemisch in Wasser gelöst, mit 4/5 Teil reinen Diphenylhydrazins und Alkohol zur klaren Lösung, gemischt, und während kurzer Zeit erhitzt. Nach 24 St. und Abkühlung wird die Arabinose- und die Fukoseverbindung abgesogen und nach Auswaschung mit Alkohol, nach der Formaldehydmethode mit viel Formaldehyd nach Kap. VII behandelt. Die schließlich gewonnene Arabinose-Fukose werden nach Kap. VIII, C. 3., S. 244 identifiziert.

Wenn wir uns davon überzeugt haben, daß bei längerem Stehen und Abkühlung sich kein Diphenylhydrazon mehr ausscheidet, werden die Xylose-Rhamnose aus dem Filtrate (ohne Waschalkohol) nach der Formaldehydmethode in Kap. VII abgeschieden, und nach Kap. VIII, C. 8., S. 251 identifiziert, wobei folgendes zu bemerken ist:

ad a) Wenn Arabinose und Fukose nicht vollkommen oder nicht fast vollkommen als Diphenylhydrazon niedergeschlagen sind, können sie neben Rhamnose als p-Tolylhydrazon niederschlagen (siehe Kap. VI, A. l, S. 205).

ad b) Das bei a) Gesagte gilt ebenso für die Brom-Benzhydrazide (siehe auch Kap. VI, A. j), S. 198).

ad c) Ebenso für die β-Naphthylhydrazone (siehe auch Kap. VI, A. f), S. 177).

ad d) Sie stören Xylose nicht.

ad e) Sie stören Rhamnose bei der Umkristallisierung aus 90%-A. nicht).

Auf Xylose kann in dem ursprünglichen Gemische nach der Xylonsäurereaktion nach Kap. III, S. 58 reagiert werden. Falls sie nicht vorliegt, gestaltet sich die Identifizierung der anderen sofort einfacher.

Weil Fukose zu den seltenen Sacchariden zu rechnen ist, werden wir in vielen Fällen nur mit Arabinose, Xylose und Rhamnose zu rechnen haben und wird hierfür auf Kap. VIII, D. 1., S. 274 verwiesen.

Eine andere Trennung ist folgende: Arabinose und Fukose werden aus der 75%-alkoholischen Lösung nach Kap. VI, S. 167, als Benzylphenylhydrazon niedergeschlagen, und nach Kap. VII abgeschieden, und nach Kap. VIII S. 244 getrennt.

Für Xylose und Rhamnose wird auf die vorige Trennung verwiesen, und gilt das dort Gesagte.

5. Bei der Voruntersuchung bestimmte Anwesenheit von Pentosen + Hexosen

Arabinose, Xylose, d-Glukose, d-Mannose, d-Fruktose und d-Galaktose können vorliegen.

Bei der „Voruntersuchung" bei 6. und 7. hat sich schon herausgestellt, ob wir mit d-Glukose + d-Mannose + d-Fruktose, oder mit d-Galaktose, oder mit beiden zu tun haben.

Für die erstgenannten 3 Hexosen wird auf 3. dieses Untersuchungsganges verwiesen.

Wenn ein oder mehrere Saccharide fehlen, werden einfachere Verhältnisse erhalten und wird für Zwei- und Dreizahle auf Kap. VIII, C und D verwiesen.

Wenn wir annehmen, daß alle 6 Monosaccharide vorliegen, ein Fall, welcher praktisch nur wenig vorkommen wird, aber immerhin möglich ist, tun wir am besten, die Untersuchung in 2 Abteilungen auszuführen, nämlich in einem Teile die Hexosen, außer Galaktose zu vergären, und dann auf die restierenden Pentosen + Galaktose nach 1. zu reagieren, und in einem anderen Teile die Hexosen nachzuweisen.

a) Glukose, Mannose und Fruktose werden in wässeriger Lösung mittels Preßhefe in 2—3 Stunden bei 35° vergoren (siehe Bemerkung bei 4. e) der Trennung Arabinose-Glukose S. 246). Die erhaltene, gereinigte Arabinose-Xylose-Galaktose werden getrennt:

Galaktose wird mittels o-Tolylhydrazin nach Kap. VI, S. 206 abgeschieden und identifiziert. Die Arabinose-Xylose werden nach Formaldehydbehandlung in Kap. VII abgeschieden, und nach Kap. VIII, C. 1. a) S. 242 identifiziert.

b) Im Gemische der 6 Saccharide sind schon die 4 Hexosen nachgewiesen worden, mittels Reaktionen, welche von den Pentosen nicht gestört werden.

Galaktose als o-Tolylhydrazon, die anderen Hexosen nach der Osazonreaktion (Kap. VI, B. a), S. 213), wobei durch Azeton die Pentosazone entfernt werden.

6. Bei der Voruntersuchung bestimmte Anwesenheit von Methylpentosen und Hexosen

Rhamnose, Fukose, d-Glukose, d-Mannose, d-Fruktose und d-Galaktose können vorliegen.

Hierbei gilt in Hauptzügen das bei 5. Geschriebene, wobei an Stelle der Pentosen die Methylpentosen zu setzen sind, und für diese wird nach Vergärung der Hexosen auf Kap. VIII, C. 14., S. 259 verwiesen. Rhamnose, Fukose und d-Galaktose bleiben. Galaktose wird wieder als o-Tolylhydrazon identifiziert, und die nach Formaldehydbehandlung in Kap. VII erhaltene Rhamnose-Fukose nach Kap. VIII, C. 14., S. 259. Siehe für Bromphenylosazone S. 220.

Für Zwei- und Dreizahle sei wieder auf Kap. VIII, S. 240 und 273 verwiesen.

7. Bei der Voruntersuchung bestimmte Anwesenheit von Pentosen, Methylpentosen und Hexosen

Alle 8 Monosaccharide können vorliegen.

Wenn die Gärungen nach 5. ausgeführt werden, bleiben Arabinose, Xylose, Rhamnose, Fukose und Galaktose zurück. Galaktose wird als o-Tolylhydrazon nach Kap. VI, S. 206 identifiziert. Die mittels Formaldehyd nach Kap. VII erhaltenen Pentosen + Methylpentosen werden nach 4. dieses Untersuchungsganges nachgewiesen, wobei mit wenig Galaktose gerechnet werden muß.

Die 3 Hexosen werden wieder nach 3. und 5. nachgewiesen.

Wenn nur Zwei- oder Dreizahle vorliegen, wird auf Kap. VIII, C. und D. verwiesen.

Die Verhältnisse der Saccharide können aber so sein, daß die Untersuchung von einer anderen Seite angefaßt werden muß (siehe dafür Kap. X).

II. Anwesenheit der Glukuronsäuregruppe neben den Monosacchariden

Wir haben auf S. 305 ausführlich erfahren, wie beide Gruppen getrennt werden, was von großem Vorteil ist.

Die Saccharide werden aus der trocknen Baryumkarbonatmasse durch dreimaliges Auskochen mit 90% und 95%-A. erhalten, und wie dort angegeben, von geringen Mengen Baryumsalzen befreit. Sie werden nach I dieses Untersuchungsganges weiter behandelt.

Die Säuren werden der ausgekochten Baryumkarbonatmasse mittels Wasser entzogen und, wie auf S. 306 angegeben, gewonnen. Die Identifizierung geschieht nach Kap. I, C., S. 19, und nach der „Voruntersuchung".

Es sei bemerkt, daß die Zuckersäurereaktion nur sicher für d-Glukuronsäure beweisend ist, wenn d-Glukose fehlt, oder mittels Hefe vergoren ist. Dasselbe gilt für die Schleimsäurereaktion auf d-Galakturonsäure, hinsichtlich Galaktose. Wenn jedoch die Baryumkarbonatmasse quantitativ mittels A. ausgekocht worden ist, ist man sicher, daß keine Glukose oder Galaktose in der Baryumkarbonatmasse zurückgeblieben ist.

So ist schon der „Voruntersuchung" mancher Hinweis zu entnehmen.

Es wird auf Kap. X verwiesen, bei Traganth.

Glukuronsaures Lakton kristallisiert, und schmilzt bei 175°. Die Säure aus Kastaniensaponin kristallisiert, und schmilzt ebenso bei 175°, und ist doch kein glukuronsaures Lakton, (sie war aber stark aschehaltend). Siehe Kap. I und Kap. VI.

Nach der Barytmethode werden natürlich die Monosaccharide und die Säuren zusammen erhalten, was die Untersuchung sehr erschwert und daher weniger empfehlenswert ist, weil die Säuren sehr störend wirken.

Übrigens sei bemerkt, daß die Erhaltung des Glukuronsäurelaktons als feste Substanz mit großen Verlusten vor sich geht und die Galakturonsäure noch keine Sicherheit für Reinheit bietet.

III. Anwesenheit nur der Glukuronsäuregruppe

Sie wird gewonnen nach der Barytmethode, auf S. 306 beschrieben, und nach Kap. I, S. 19 und „Voruntersuchung" dieses Kapitels identifiziert. (Siehe Bemerkung am Ende von II.)

D. Quantitative Bestimmung der einzelnen Saccharide

Für die quantitative Bestimmung der einzelnen Saccharide und Zwei- und Dreizahle wird auf Kap. V, zur näheren Bestätigung der erhaltenen Resultate verwiesen.

Kapitel X

Zwecks näherer Demonstration des in den vorigen Kapiteln Behandelten, wollen wir drei kompliziertere Fälle phytochemischer Sacchariduntersuchung, wie sie uns öfter begegnen können, näher betrachten, nämlich die Hydrolyseprodukte des Aprikosenbaumgummis, des Kastaniensamensaponins und des Traganth-Gummis (des bei Verwundung aus Astragalusarten fließenden Gummis). Die Untersuchung einfacher gebauter Glukoside usw. werden dadurch eingeschlossen.

A. Untersuchung der Hydrolyseprodukte des Aprikosenbaumgummis

Lit.: Martina[1]) hydrolysierte wahrscheinlich italienischen Gummi. Er schloß auf 12,21 % Galaktose nur nach der Schleimsäurereaktion, und auf 34,54 % Pentosen, nur nach der Furfurolbestimmung.

Lemeland[2]) hydrolysierte französischen Gummi; er schloß in derselben Weise wie Martina (l. c.) auf Galaktose (19,8 % und 15,533 %) und auf Pentose (40,75 % und 30,666 %).

l-Arabinose wurde über das Benzylphenylhydrazon isoliert und durch Schmelzpunkt 154°, und $\alpha_D = + 102,5°$ identifiziert. Weiter sollte noch ein drittes Saccharid vorliegen.

Betrachtung

In den vorigen Kapiteln ist schon öfter erörtert worden, daß der Galaktosenachweis nur nach der Schleimsäuremethode nicht erlaubt ist, ebensowenig quantitativ, weil damals keine richtige Schleimsäurebestimmung bestand und weiter die Glukuronsäuregruppe in Gummiarten unbekannt war. Dasselbe gilt für den Pentosennachweis nach der Furfurolbestimmung. Nur der qualitative Arabinosenachweis nach Lemeland ist als feststehend zu betrachten.

---

[1]) G. Martina durch Apoth.-Ztg. 1894, S. 295.

[2]) P. Lemeland, Sur la gomme d'abricotier in: Diss. Paris 1905 und J. Ph. Ch. **21**, 443—448 (1905).

Untersuchung

Nach dem in Kap. IX entwickelten Analysengang wurde zuerst die „Voruntersuchung“ gemacht.

Voruntersuchung

1. Eine Wasserbestimmung wies 16,6% Wasser auf.

2. Eine Aschebestimmung 2,4%, hauptsächlich aus Calcium und Magnesium bestehend.

3. Qual. Pentosen- (inkl. Säuren) und Methylpentosennachweis

Nach den Ergebnissen zufolge Kap. III untersucht, fielen die Pentosenreaktionen positiv aus. Methylpentosen konnten nicht nachgewiesen werden, wahrscheinlich dadurch, daß das Verhältnis Pentose-Methylpentose für letztere zu ungünstig war. Nach den Bestimmungen unter 4 genannt, wurde nämlich eine geringe Menge Methylpentose sehr wahrscheinlich.

4. Quant. Bestimmung der Furfurol- und Methylfurfurolphlorogluzidmengen

1 g Gummi erzeugte 414 mg Total-phlorogluzid nach der Methode im quantitativen Teil des Kap. III ausgeführt.

Nach der Alkoholbehandlung wurden 28 mg Phlorogluzid gelöst, übereinstimmend mit etwa 50 mg als Rhamnose berechnete Methylpentose, also ungefähr 5%. Das würde also die Methylpentose sein, welche nach 3 nicht nachgewiesen werden konnte.

Es blieb also übrig: 386 mg Furfurolphlorogluzid von den als Pentosen reagierenden Substanzen herkommend.

5. Quant. Bestimmung der Säuren

Nach der Lefèvreschen CO_2-Methode im quant. Teil des Kap. III, S. 71, gab 1 g Gummi 24 mg CO_2. Wenn wir 2 mg des blinden Versuches in Abzug bringen, welche Bestimmung mit reinen Sacchariden zu der Menge, welche in 1 g Gummi vorkommen, gemacht wurde, so bleiben 22 mg CO_2 übrig.

Aus der weiteren Untersuchung der Hydrolyseprodukte gelang es mir, die Glukuronsäuregruppe im weitesten Sinne nachzuweisen (siehe 6), jedoch nicht die Glukuron- und Galakturonsäure. Es ist daher deutlich, daß eine andere Carboxylsäure vorliegen muß, welche sonst alle Eigenschaften mit obengenannten gemeinsam hat, wie die Fällung mit bas. Bleiazetate, die sofortige Reduktion der

Fehlingschen Lösung in der Kälte, die Naphtoresorzinreaktion (siehe 6) und die CO_2-Abspaltung, also zur Glukuronsäuregruppe gehört. Es ist daher willkürlich, die Säure als Glukuronsäure zu berechnen, durch Multiplizierung der CO_2-Menge mit 4, ist aber noch nicht anders möglich, weil es nicht gelang, die Säure zu identifizieren. Es wird also ungefähr 4 × 22 mg Säure = ungefähr 8,8 % Säure. Jetzt können wir aus 4 die Menge abgespaltene Pentosen berechnen (es stellte sich nachher heraus, daß nur Arabinose aufgefunden wurde, keine Xylose). Die 386 mg Phlorogluzid stimmen mit etwa 429 mg Arabinose = 42,9 % aus der Kröberschen Tabelle auf S. 77 überein.

6. Nachweis der „Glukuronsäuregruppe"

Nach der Naphtoresorzinreaktion mit Benzolausschüttelung in der Weise bei 6 in Kap. IX beschrieben, also über die Bleiverbindung, liegt die „Glukuronsäuregruppe" vor. Ebenso fielen 2 und 3 des Kap. IX positiv aus. Wie aus weiterer Untersuchung hervorging, mußte jedoch auf die Abwesenheit der Glukuron- und der Galakturonsäure geschlossen werden.

7. und 8. Qual. und Quant. Hexosenbestimmung

3/4 g Gummi wurde mittelst 25 ccm 5%iger Schwefelsäure während 6 Stunden gekocht; die Hydrolyse war vollständig, wie mir klar wurde. Die Flüssigkeit wurde nach 8. in Kap. IX vorbereitet und schließlich auf 10 ccm bei 15° aufgefüllt.

a) Aus der quant. Bestimmung im „Lohnstein"schen Apparate nach Kap. IV, S. 106 ergab sich die Abwesenheit von Glukose, Mannose und Fruktose. Die Ergebnisse waren gleich dem des blinden Versuches.

b) Mit 1 ccm wurde im van Iterson-Kluyverschen Apparate nach Kap. IV, S. 109 eine Totalhexosebestimmung gemacht, mittels einer Laktosehefereinkultur.

1 ccm = 75 mg Gummi.
t = 17°, B. = 748 mm.

Ablesung 3,55 ccm. Aus der Korrektionstabelle auf S. 111 erfolgt, daß 0,26 ccm in Abzug zu bringen sind, und vermehrt werden muß mit 1,2 ccm für die in Lösung gebliebene CO_2 (S. 112). Es bleiben also 3,55—0,26 + 1,2 ccm = 4,49 ccm. Weil die anderen Hexosen fehlten, wurde ohne weiteres klar, daß 4,49 × 4,4 mg Galaktose = 19,756 mg vorliegen, also 26,3 %. Nachher wurde die Galaktose näher identifiziert. Siehe die nähere Kontrolle der Galaktosen-

menge bei c) und d). Auch der Parallelversuch zeigte die richtige Versuchsbedingung.

c) Zur weiteren Kontrolle wurde eine Schleimsäurebestimmung in 5 ccm = 375 mg Gummi, nach S. 123 gemacht; es wurden also 625 mg Saccharose mit oxydiert, um aus der Totalsumme von 1 g Saccharid, aus der Tabelle II (S. 126) die Galaktose auffinden zu können (siehe ausführlich dort).

Es wurden 65,5 mg Schleimsäure gefunden, also mit 104 mg Galaktose übereinstimmend = 27,7 %.

d) Um uns näher von der Ab- oder Anwesenheit der d-Galakturonsäure zu überzeugen, wurde aus 1 g Gummi die Totalmenge Schleimsäure aufs Neue bestimmt. Es wurden hier also ohne Saccharosehinzufügung aus der Tabelle II, die Menge Schleimsäure gefunden. Es wurden 193 mg Schleimsäure erhalten = 285 mg Galaktose = 28,5 %. Wenn wir die große Anzahl Bestimmungen nach sehr verschiedenen Methoden, und die vielen Ablesungen und Korrektionen in Betracht ziehen, dürfen wir sagen, daß die erhaltenen Daten 26,3 %, 27,7 % und 28,5 % stimmen; sie weisen weiter darauf hin, daß die d-Galakturonsäure nicht vorliegt. War die d-Galakturonsäure vorhanden, so konnten die Ergebnisse nach der Gärmethode unmöglich mit der Schleimsäuremethode stimmen, weil die Säure nicht gärt.

Wir haben hier ein sehr wichtiges Mittel uns von der Ab- oder Anwesenheit der Galakturonsäure zu überzeugen, wozu die biochemische Methode unentbehrlich ist; das wird sofort einleuchten, und sie soll niemals wegfallen. Ich erachte diesen Beweisgrund weit besser, als den von Ehrlich (a. a. O.) gegebenen, nämlich durch Oxydierung mit warmem Brom bei der HBr-Hydrolyse; wie Ehrlich selber sagt, wird auch ein Teil der Galaktose oxydiert; nur in dem Falle, wo viel Schleimsäure entsteht, würden wir mit Galakturonsäure zu tun haben. Wo hier alle richtige Wertschätzung fehlt, erachte ich seinen Beweis für die Anwesenheit von Galakturonsäure sehr zweifelhaft, und er steht obigem Beweis nach der Gärmethode usw. sehr nach. Wir warten indessen eine nähere Untersuchung Ehrlichs ab. Daß die Galakturonsäure sehr wahrscheinlich stets die Galaktose begleiten würde, wie E. meint, erscheint also zweifelhaft. Während E. in mehreren Substanzen u. m. in mehreren Gummiarten diese Säure aufgefunden glaubte, fehlt sie in dem Aprikosengummi, welcher etwa 27 % Galaktose abspaltet. Ebenso fand ich sie nicht im Kastaniensaponin (siehe weiter),

welches zwar eine geringe Menge Galaktose abspaltet. Es sollten also alte Gummiarten nach der richtigen Methode, oben beschrieben, untersucht werden. In Traganth (siehe C.) kommen beide vor.

9. Quant. Bestimmung des Nicht-Saccharidrestes. Dieser betrug nur 0,78 %.

Wir stellen die erhaltenen Daten auf:

Wasser = 16,6 %.
Asche = 2,4 %.
Säuren = etwa 8,8 %.
Pentose = 42,9 % (nachher Arabinose).
Methylpentose = 5 %.
Galaktose = 28 % (Galaktose nachher bestätigt).
Andere Hexosen abwesend.
Nicht-Saccharidrest = 0,78 %.
Summe = etwa 104,48 %.

Weiter kommt eine geringe Menge nicht näher bestimmte flüchtige Säure vor. Aus der erhaltenen Summe der einzeln bestimmten Substanzen folgt, daß die systematische Untersuchung höchstwahrscheinlich keine Substanzgruppen überschlagen hat.

Nach dieser Voruntersuchung wurden die zur Verfügung stehenden 25 g, wie bei 7 und 8 angegeben, völlig hydrolysiert. Die Flüssigkeit wurde in zwei Teile geteilt, die eine Hälfte nach der „Barytmethode" in Kap. IX, S. 306 angegeben behandelt, die andere nach der „Baryumkarbonatmethode" (S. 305).

Beide Sirupe kristallisierten nach einiger Zeit. Durch die Abwesenheit von Säuren kristallisierte der zweite Sirup schneller wie der erste.

Die Säuren wurden aus der mit Alkohol ausgezogenen Baryumkarbonatmasse (nach Kap. IX, S. 306) gewonnen. Sie wurden als ein gelblicher, dicker Sirup erhalten, welcher nicht kristallisierte, aber erst nach Überschichtung mit absolutem Alkohol in eine farblose, nicht schön kristallisierende Substanz überging. Sie reagierte sauer auf Lackmuspapier, reduzierte Fehlingsche Lösung in der Kälte fast augenblicklich, gab die Naphthoresorzinreaktion, schmolz aber weit unter 175°. (Siehe weiter: Auffindung der Säure im Sirup nach der Barytmethode gewonnen.)

Untersuchung der erhaltenen Saccharide aus der Baryumkarbonatmasse

Die oben erhaltenen Kristalle wurden mit 90%-A. gerieben, auf einem Saugfilterchen gesammelt und mit A. gewaschen.

Weil zu erwarten war, hier mit einer Substanz oder wenigstens hauptsächlich, zu tun zu haben, und nach den Eigenschaften mit Arabinose, findet hier Kap. VIII B., das bei l-Arabinose Beschriebene Anwendung, nämlich deren Identifizierung, vorzugsweise als α-Benzylphenyl-, Diphenyl-, p-Bromphenyl- und α-Methylphenylhydrazon.

Nach Kap. VI, A. g), S. 178 mit 100 mg des Saccharids ausgeführt, war der Schmelzpunkt des Arabinosediphenylhydrazons 204—205°.

Nach Kap. VI, A. b), S. 153 mit 200 mg des Saccharids in essigsaurer Lösung war der Schmelzpunkt des Arabinose-p-Bromphenylhydrazons bei erstem Schmelzpunkt 166—167°, bei zweitem 168°.

Diese Verbindungen sind für Arabinose nach den erhaltenen Schmelzpunkten charakteristisch.

Als α-Methylphenylhydrazon aus 100 mg nach Kap. VI, A. c), S. 162 war der Schmelzpunkt 175°, also zwischen den von Arabinose (165°) und von Galaktose (189—190°) liegend.

Wahrscheinlich war also bei der Kristallisierung des Sirups etwas Galaktose mit auskristallisiert.

Die Mutterlauge der Arabinosekristalle (welche ungefähr zur Hälfte auskristallisiert war), wurde eingedampft. Xylose fehlte nach der Xylonsäurereaktion auf S. 58.

Der Sirup enthält also noch Arabinose, daneben sehr wahrscheinlich Galaktose (Voruntersuchung). Weil noch eine geringe Menge Methylpentose wahrscheinlich war, haben wir es hier zu tun mit Fall I, 7., des Kap. IX S. 313, nämlich mit einem einfacheren Fall desselben, also einer Pentose + einer Hexose (Galaktose) + einer Methylpentose.

Der jedenfalls geringen Menge des letzteren wegen, können wir verweisen auf die Zweizahl Arabinose-Galaktose in Kap. VIII, C. 6., S. 248. Danach wurde Arabinose als Benzylphenylhydrazon identifiziert, Galaktose als α-Methylphenylhydrazon, Schmelzpunkt 190—191° und als o-Tolylhydrazon mit Schmelzpunkt 176°, und als Schleimsäure mit Schmelzpunkt 214°.

Auch gelang die Galaktoseidentifizierung als o-Tolylhydrazon sofort in dem Gemische. Über dieses Hydrazon ist die Galaktose rein zu gewinnen.

Es handelt sich jetzt noch um die Identifizierung der geringen Menge Methylpentose:

4 g der eingedampften Mutterlauge wurden mit W., 4 g α-Methylphenylhydrazin und A. zur klaren Lösung erhitzt. Nach 24 St. wurde das Hydrazon der Arabinose und der Galaktose abgesogen. Die Mutterlauge wurde nach der Formaldehydmethode verarbeitet. Es gelang mir nicht, Rhamnose als p-Bromphenylosazon nach Kap. VI zu identifizieren. Die kleine Menge Methylpentose bleibt also unsicher.

Untersuchung der Säure im Sirup, nach der Barytmethode gewonnen

3 g des sauren Sirups wurden mit der 12-fachen Menge Salpetersäure nach S. 103 oxydiert und zum Sirup verdampft. Nach 24 St. wurde Schleimsäure abgesogen. Das Filtrat wurde konzentriert, mit W. verdünnt, wieder eingedampft, wieder Schleimsäure abgesogen. Das konzentrierte Filtrat wurde mit K_2CO_3 neutralisiert, mit Essigsäure angesäuert, und im Exsikkator konzentriert. Nach 24 Std. wurde eine dickliche Masse erhalten, es wurden keine typischen Kristalle des sauren zuckersauren Kaliums erhalten. Die Masse wurde auf einem Saugfilter abgesogen und mit kleinen Mengen W. betüpfelt. Die zurückgebliebene Masse wurde mit Ammoniak neutralisiert und es wurde Silbernitrat zugegeben. Sehr bald fand eine Reduktion zu metallischem Silber statt. Es gelang mir, der kleinen Quantität wegen, nicht, die Säure ausfindig zu machen. Glukuron-, Galakturon- oder Aldehydschleimsäure konnten nicht nachgewiesen werden, wie hier und oben sich herausstellte, und doch war es eine Säure der Glukuronsäuregruppe, unter welcher ich eine Säure verstehe, welche die Naphtoresorzinreaktion mit Benzolausschüttelung gibt, die Fehlingsche Lösung in der Kälte sofort reduziert und von basischem Bleiazetat niedergeschlagen wird.

Daß die Glukuronsäure fehlen mußte, stellte sich ebenso heraus bei der Oxydierung von 5 g des ursprünglichen Aprikosengummis, wie oben beschrieben. Auch hier trat wieder die Silbernitrat stark reduzierende Substanz auf, welche als Kaliumsalz in gelben, zu Garben vereinigten Nädelchen kristallisierte, es wurde aber kein saures zuckersaures Kalium erhalten. Wenn Glukuronsäure anwesend wäre, hätten wir es nach der Voruntersuchung mit 8,8 %, also mit 440 mg zu tun, und wären die Kristalle sicher reichlich bemerkbar gewesen.

Der kleinen, mir zur Verfügung stehenden Menge Aprikosengummi wegen, gelang es mir nicht, die neuaufgefundene Menge Methylpentose (5%) und Säure (8,8%) näher zu bestimmen, neben der schon bekannten Arabinose und Galaktose, jedoch die systematische Untersuchung nach dem aufgestellten Untersuchungsgang hat sie ans Licht gebracht, und konnte die Abwesenheit der Glukuron- und der Galakturon- und Aldehydschleimsäure sichergestellt werden, sowie der Xylose, Fukose, Glukose, Mannose und Fruktose.

B. Untersuchung der Spaltungssaccharide und -säuren des Kastaniensaponins

Lit.: Die Samen des wilden Kastanienbaumes, *Aesculus Hippocastanum* L. wurden schon öfter untersucht, nämlich von Frémy, Rochleder, von Schulz (1). Weiter von Weil (l. c.), Goris (2), Laves (3), Masson (4) und Blau (5).

Aus diesen Untersuchungen wird hier nur derjenige Teil der sich auf die Saccharide bezieht, zitiert. An anderen Orten, wo das von mir kristallinisch erhaltene Sapogenin behandelt wird, wird das Übrige wiedergegeben.

Masson (l. c.) erwähnt bei der Hydrolyse ein oder mehrere Saccharide, welche nicht näher identifiziert werden. Aus dem Schmelzpunkt eines erhaltenen Osazons (132—133° und 189—190°) schließt Masson auf die Abwesenheit von Glukose. Dieser Schluß aber ist unzulässig. Ich fand, daß die Saponinzucker etwa zur Hälfte aus d-Glukose bestehen. Massons Osazon mußte ein verunreinigtes Gemisch sein. Masson (l. c.) findet einen Teil der Saponine sehr schwer hydrolisierbar. Blau (l. c.) erachtet die Hydrolyse des Gemisches mit verdünnter Schwefelsäure zutreffend; er fand nur 19,42% Sapogenin und 21,22% Saccharid als Dextrose auf. Ich fand den Massonschen Befund der schwierigen Hydrolyse bestätigt. Meine erhaltenen Daten liegen aber viel höher als die Blauschen.

---

[1]) L. Weil, Diss. Straßburg 1901.

[2]) A. Goris, Recherches microch. sur quelques glucosides et quelques tannins végétaux. Thèse Paris 1903.

[3]) E. Laves, Über Untersuchung und Verwertung der Säuren vom Roßkastanie. Versamml. d. deutsch. Naturf. und Ärzte II, 2, 660 (1902).

[4]) G. Masson, Recherch. s. quelques plantes à saponine. Thèse Paris 1910. — idem. Les principes actifs des graines des Marronier d'Inde. Bull. pharmacol. **20**, 65—72 (1918).

[5]) H. Blau, Beiträge zur Kenntnis der Saponine. Diss. Zürich 1911.

Blau (l. c.) wies Arabinose, Glukose und Fruktose nach.

Arabinose konnte von mir nicht nachgewiesen werden, wohl lag eine andere Pentose oder als Pentose reagierende Substanz vor. Fruktose konnte von mir aus dem völlig von Rohrzucker befreiten Saponin nicht erhalten werden. Die Anwesenheit von Glukose konnte ich bestätigen.

Weiter fand ich noch 4,2% einer Methylpentose, 2,24% d-Galaktose, und etwa 10% einer nicht zur Glukuronsäuregruppe gehörenden Säure auf. Es konnte weiter die Abwesenheit von Xylose, Fukose, Mannose, d-Glukuron- und d-Galakturonsäure nachgewiesen werden.

Untersuchung:

Das Saponin wurde nicht nach Masson (l. c.) getrennt, sondern als Gemisch hydrolysiert. Das Samenpulver wurde mittels Petroläthers entfettet, und das Saponin mittels 95%-Äthylalkohol ausgekocht. Die Lösung wurde zur Trockne verdampft, in absoluten Methylalkohol aufgenommen, wobei viel Rohrzucker ungelöst blieb. Das Filtrat, das noch eine ziemliche Menge Rohrzucker enthielt, wurde im Übermaß mit Äther behandelt und das gesammelte Saponin in wässeriger Lösung von viel Wasser umgeben, während 2 Tagen dialysiert, und das Exarisat erneuert. Das wurde 13 mal wiederholt. Jetzt war der Rohrzucker völlig entfernt. Wurde nämlich das Saponin mittels Bleiessigs niedergeschlagen, so blieb das Filtrat nach Hinzufügung von Ammoniak klar. Eine kleine, absichtlich zugegebene Menge Rohrzucker gab einen Niederschlag.

Für die Abtrennung der Saponine wählte ich nicht die Bleimethode, weil das Saponin Säuren gegenüber sehr empfindlich ist. Die Saponinlösung wurde zur Trockne verdampft, und das Saponingemisch der Hydrolyse unterworfen.

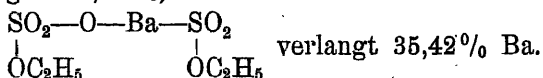
Hydrolyseversuche.

Obschon, wie Blau (l. c.) mitteilt, das Saponin mit verdünnter Schwefelsäure bald zu hydrolysieren beginnt, fand ich, daß es nötig war, das Saponin zuerst mit 5%iger wässeriger Schwefelsäure während 6 Stunden zu kochen, dann das erhaltene Sapogenin noch 6 Stunden mit 5% Schwefelsäure in 45%-A., und um letzte

Spuren Saccharid abzuspalten noch mit 6 % Salzsäure in 70 %-A. Das Kastaniensaponin spaltet sich also sehr schwer.

Nur die Saccharide der beiden Schwefelsäurehydrolyse wurden gesammelt. Die der Salzsäure waren nur eine sehr geringe Menge.

Es ist nicht zulässig, mit 5 % Schwefelsäure in 70 %-A. zu hydrolysieren, weil der Alkohol auf die Schwefelsäure einwirkt, so daß bei nachheriger Behandlung mit Baryumkarbonat, der erhaltene Saccharidsirup stark mit Kristallen von Äthylbaryumsulfat verunreinigt wird, was sich aus der Baryumbestimmung als $BaSO_4$ ergab (Ba gef. 35,67 %).

$$\begin{matrix} SO_2\text{—}O\text{—}Ba\text{—}SO_2 \\ | \qquad\qquad\qquad | \\ OC_2H_5 \qquad\quad OC_2H_5 \end{matrix} \quad \text{verlangt } 35{,}42\,\%\ \text{Ba.}$$

Voruntersuchung des Saponins

1. Eine Wasserbestimmung wies 9,8 % Wasser auf.

2. Eine Aschebestimmung 1 % (Ca- und Mg-Ion enthaltend).

3. Qual. Pentosen (event. inkl. Säuren) und Methylpentosennachweis.

Nach Kap. III untersucht, fielen die Pentosen- und die Methylpentosenreaktionen positiv aus, obschon die Pentosenreaktionen zweifelhaft waren.

Bial. keine Banden.

Wheeler keine Banden.

Resorzin- und Schiffsche Reaktion: Pentosenband.

Rosenthalersche Reaktion: Methylpentosenband.

4. Quant. Bestimmung der Furfurol- und Methylfurfurolphlorogluzidmengen.

1 g Saponin erzeugte 96 mg Phlorogluzid. Nach Behandlung mit abs. A. blieben 74 mg ungelöst. Nach Aufzählung von 2 mg Phlorogluzid für die regelmäßig aufgelöste Menge Furfurolphlorogluzid, wird es also **76 mg**, und **20 mg** Methylfurfurolphlorogluzid.

5. Quant. Bestimmung der Säuren.

Nach der Lefèvreschen CO_2-Methode wurden aus 1 g Saponin 100 mg CO_2 erhalten.

Die Glukuronsäuregruppe lag nach 6. nicht vor, wohl eine andere reduzierende Säure. Es ist also willkürlich, die Menge CO_2 mit 4 zu multiplizieren. Um einigermaßen ihre Menge zu schätzen, wurde als Glukuronsäure berechnet. Es waren also etwa 10 %.

6. Nachweis der Glukuronsäuregruppe.

Auf die Weise bei 6., im Kap. IX, S. 300 beschrieben, untersucht, fiel die Naphthoresorzinreaktion negativ aus. Auch die nachher erhaltene Säure oder Lakton gab die Reaktion nicht.

Fehlingsche Lösung wurde in der Kälte fast sofort reduziert.

Bei nachheriger Untersuchung wurde klar, daß eine Säure oder ihr Salz mit Schmelzpunkt 175° vorlag, welche keine Pentosenreaktionen gab, und bei der Pentosenbestimmung keine Spur Furfurolphlorogluzid gab. Die Glukuronsäuregruppe fehlt gänzlich. Wir brauchen also bei der Furfurolbestimmung in 4 mit dieser Säure nicht zu rechnen, und ist die gefundene Menge Furfurolphlorogluzid ad 76 mg, als von Pentosen stammend, aufzufassen.

Anwesend also in 1 g Saponin nach der Kröberschen Tabelle 89,7 mg als Arabinose berechnet = **8,97%** (war keine Arabinose).

Die gefundene Menge Methylfurfurolphlorogluzid stimmt nach der Ellettschen Tabelle mit 42,3 mg Rhamnose = **4,23%** überein (die Methylpentose blieb unbekannt).

7. und 8. Qual. und quant. Hexosenbestimmung.

Nach 7 und 8 in Kap. IX, S. 301, wurde 1 g Saponin völlig hydrolysiert, also erst mit 5% wässeriger Schwefelsäure, dann mit 5%-Schwefelsäure in 45%-A. usw.

Schließlich wurde mit sterilem Wasser auf 10 ccm aufgefüllt. Siehe Kap. IV.

a) Mit ½ ccm = 50 mg Saponin wurde im Lohnsteinschen Apparate die Bestimmung von Glukose + Fruktose + Mannose gemacht. Nachher stellte sich heraus, daß nur d-Glukose vorlag. Es war also eine Glukosebestimmung.

$t = 16$; $B = 763$. $p_{20} = 2{,}2$; $p_{35} = 1{,}8$. Also $p = 1{,}8 + \frac{0{,}4}{15} \times 19 = 2{,}3\%$ in ½ ccm = 11,8 mg = 23% d-Glukose.

Eine zweite Bestimmung ergab wieder 23%.

b) Mit 1 ccm = 100 mg Saponin wurde im van Iterson-Kluyverschen Apparate mit Laktosehefe eine Bestimmung von Glukose + Galaktose gemacht und daraus die Menge Galaktose berechnet.

$t = 15°$; $B = 760$; abgelesen 5,1 ccm. Berechnet auf 0° und 760 mm, müssen nach Tabelle auf S. 111 5,2% in Abzug gebracht werden, bleiben 4,835 ccm. Für Glukose müssen $\frac{23}{4{,}2}$ ccm = 5,48 ccm in Abzug gebracht werden. Bleibt — 0,645 ccm. Für

die gelöste Kohlensäure in 1 ccm wird 1,2 ccm aufgezählt. Wird also für die Galaktose 0,555 ccm, übereinstimmend mit 2,44 mg = **2,44 %** Galaktose.

Ein Parallelversuch wies die richtige Versuchsbedingung nach. Siehe weiter die Kontrolle nach der Schleimsäuremethode unten bei c. Siehe den Galaktosenachweis weiter auf S. 328.

c) Eine Galaktosebestimmung nach der Schleimsäuremethode auf S. 123 in 5 ccm = 1/2 g Saponin (1/4 g ist Sapogenin) unter Hinzufügung von 1/2 g + 1/4 g = 3/4 g Rohrzucker, unter Benutzung von Tabelle II, also zusammen 1 g Saccharid, ergab 2,5 mg Schleimsäure = 10,16 mg d-Galaktose = **2,03 %**.

Beide Bestimmungen stimmen innerhalb der Fehlergrenzen, also im Mittel **2,24 %** Galaktose.

Die Glukuronsäuregruppe lag nicht vor, also war die Schleimsäurebestimmung als eine Galaktosebestimmung anzusehen; es war eine nähere Kontrolle.

9. Quant. Bestimmung des Sapogenins (Aglukon). Es wurden 46,2 % gefunden (Roh-Sapogenin).

10. Eine Bestimmung der flüchtigen Säure, willkürlich auf Essigsäure berechnet, ergab 3,4 %.

Alles zusammenfassend wurde gefunden:

Wasser . . . =	9,8 %	
Asche . . . . =	1,— %	
Säure . . . . =	10,— %	(etwa) [als Glukuronsäure berechnet]
Pentose . . . =	8,97 %	(oder als Pentose reagierende Substanz, als Arabinose berechnet)
Methylpentose . =	4,23 %	(als Rhamnose berechnet)
Hexose . . . =	23,— %	(nachher nur Glukose gefunden)
d-Galaktose . . =	2,24 %	
Roh-Sapogenin . =	46,2 %	
Flüchtige Säure =	3,4 %	(als Essigsäure berechnet)
	etwa 108,84 %	

Nachweis der einzelnen Saccharide und Säuren

Etwas auf die unten erhaltenen Resultate vorwegnehmend, erfahren wir bei dieser Untersuchung hier und dort merkliche Störungen bei der Identifizierung durch die Anwesenheit einer

Säure. Diese Säure gehört zwar nicht zu der Glukuronsäuregruppe, fällt also außerhalb des Rahmens dieses Buches, sie verursacht aber als „neue" von der Glukuronsäuregruppe in einigen Eigenschaften abweichende Säure, mehrere Schwierigkeiten, welche beseitigt werden müssen. Für die phytochemische Forschung erscheint es wichtig genug, sie hier aufzunehmen, um so mehr, da sie möglicherweise weiter verbreitet in der Natur vorkommen kann.

Das Saponin wurde, wie oben beschrieben, völlig hydrolysiert, und die Hydrolyseflüssigkeit mit Übermaß reinen Baryumkarbonats eingedampft. Die getrocknete Masse wurde einige Male mit 90 %igem Alkohol ausgekocht. Wider Erwarten reagierte der Alkohol deutlich sauer auf Lackmuspapier, nicht auf Congo. Die alkoholische Lösung wurde zum Sirup eingedampft. Einmal gelang es mir, nach längerer Zeit eine Kristallisierung einer Säure zu erhalten; der Sirup wurde mit Alkohol gerieben, und die zurückgebliebenen Kristalle wurden gesammelt, mit Alkohol gewaschen, getrocknet und aus Wasser umkristallisiert. Der Schmelzpunkt der stark aschehaltigen Substanz war 175°; die Substanz hatte auch weiter die Eigenschaften des glukuronsauren Laktons, außer der Naphthoresorzinreaktion und der Furfurolbildung.

Es gelang noch nicht, die Säure zu identifizieren, weil zu wenig Substanz dafür übrig blieb.

Zwei Verbrennungen auf aschefreie Substanz berechnet: C 40,14 %, H 6,96 % und O 52,9 %, also $C_{3,34}H_{6,96}O_{3,3}$ oder $C_{3,03}H_{6,3}O_{3} = C_{3}H_{6}O_{3}$ als einfachste Formel.

Aus Mangel an Substanz konnte vorläufig nicht mehr als das in diesem Kapitel schon Gegebene mitgeteilt werden. Schmelzpunkt und Verbrennungszahlen sind als sehr vorläufige zu betrachten.

Ein anderes Mal kristallisierte die Säure nicht aus, sondern wurde der Sirup festkristallisiert, durch Auskristallisierung von d-Glukose.

Diese Kristalle wurden wie oben gesammelt, sie bestanden nicht nur aus Glukose, sondern enthielten eine geringe Menge der Säure, denn Fehlingsche Lösung wurde bei gewöhnlicher Temperatur sofort reduziert, und ihre Reaktion war sauer. Daß die Kristalle übrigens d-Glukose waren, wurde wie folgt dargetan:

1. Mit 1 g Kristallen wurde die zuckersaures Silber-Reaktion erhalten nach S. 100.

2. Ein Osazon wurde erhalten, das nach Abwaschung mit Azeton und Umkristallisierung aus 70%-A. bei 207° schmolz (Kap. VI, S. 213).

3. 200 mg der Kristalle wurden mit 5 ccm 95%-A. und 200 mg p-Nitrophenylhydrazin während 1/4 St. erhitzt. Nach 24 St. war fast nichts auskristallisiert. Nach Hinzufügung von Wasser blieb das Hydrazon kolloidal gelöst. Nach Absättigung mit Chlornatrium entstand ein Niederschlag, aus welchem kein Hydrazon zu erhalten war. Im Filtrate entstand aber nach einem Tage ein gelber, kristallinischer Niederschlag, der nach Abwaschung mit Wasser und mit Alkohol, aus 95%-A. umkristallisiert wurde. Es kristallisierte ein Hydrazon vom Schmelzpunkt 189° aus, also die Glukoseverbindung.

Obschon die Kristalle hauptsächlich aus Glukose bestanden, ist doch ersichtlich, wie schwierig es war, ein reines p-Nitrophenylhydrazon zu erhalten; vielleicht störte die Säure.

4. Die Erhaltung des p-Bromphenylosazons nach Kap. VI, S. 218 gelang nicht leicht.

Bei der Umkristallisierung aus 90%-A. wurde es meistens amorph erhalten. Wurde mit Alkohol in der Weise gekocht, daß ein Teil des Osazons zurückblieb, so schmolz dieser Teil bei 212° (theor. 216°).

Die anderen Saccharide konnten in der Glukose nicht nachgewiesen werden.

Die Mutterlauge der Glukosekristallisierung wurde wieder zum Sirup verdunstet. Er war sehr hygroskopisch, reagierte sauer und enthielt nach dem Lohnsteinschen Verfahren noch 10% mit Preßhefe vergärbare Hexose (war Glukose),

In 2 g Sirup konnte Xylose nach der Xylonsäurereaktion auf S. 58 nicht nachgewiesen werden.

Mannose konnte nach Kap. VI, S. 149 als Phenylhydrazon nicht nachgewiesen werden.

Fruktose ebensowenig als α-Methylphenylosazon nach Kap. VI S. 222. Die Ketosenreaktionen nach S. 91 verliefen zweifelhaft; möglicherweise liegen Spuren Fruktose vor, von anwesenden Spuren Saccharose herrührend. Zum Saponinmolekül, wie Blau (a. a. O.) fand, gehört Fruktose gewiß nicht.

Nachweis von d-Galaktose

Da die Voruntersuchung nach der biochemischen Methode die Anwesenheit einer geringen Menge d-Galaktose sehr wahr-

scheinlich gemacht hatte, wurde versucht, zuerst die Glukose mittels Preßhefe zur Vergärung zu bringen. Das gelang merkwürdigerweise nicht; es trat keine Gärung ein. Indirekt war die Säure daran schuld; im Sirup lag nämlich ein Teil ihres Baryumsalzes vor, das durch größere Löslichkeit in Alkohol, im Gegensatz zu der Glukuronsäuregruppe, in ziemlicher Menge darin vorkommt. Diese Baryumsalze hemmen offenbar die Gärung gänzlich. Daraus ist ersichtlich, wie nötig es erscheint, einen Parallelversuch mit z. B. 20 mg d-Galaktose bei der quantitativen Gärung nach van Iterson-Kluyver anzustellen, um zu sehen, ob die Flüssigkeit richtige Gärung zuläßt. Daß die Gärungen der „Voruntersuchung im Lohnsteinschen und im van Iterson-Kluyverschen Apparate vollständig verliefen, findet sehr wahrscheinlich seine Ursache in den kleinen hier benutzten Mengen, wodurch ebenso nur ganz geringe Mengen Baryumsalze gelöst werden. Sobald aber, wie im vorliegenden Falle, die Gewinnung der Saccharide in größerem Maßstabe stattfindet, ändert sich alles.

Wurde nun die baryumhaltige Lösung des Sirups mit Natriumkarbonat bis zu ganz schwach alkalischer Reaktion behandelt, und die filtrierte Lösung mit verdünnter Essigsäure neutralisiert, so war die Lösung gärungsfähig geworden und trat mit Preßhefe gute Gärung ein. Indessen trat ein Stillstand ein, bevor alle Glukose völlig vergoren war; das Filtrat wurde konzentriert, wieder Wasser und Preßhefe zugegeben; bei 35° trat wieder Gärung ein. Nach einigen Stunden war die Glukose völlig vergoren; im Lohnsteinschen Apparate war keine Glukose mehr nachweisbar.

Das Filtrat wurde zum Sirup eingedampft, mit starkem Alkohol behandelt, und das Filtrat wieder zum Sirup eingedampft.

Durch Oxydierung mit Salpetersäure nach S. 100 u. 103 wurde aus 10 Tropfen Sirup Schleimsäure erhalten. Galakturonsäure lag nicht vor, weil, wie wir erfahren hatten, die Glukuronsäuregruppe fehlte. Oxydierung des Sirups mit kaltem Brom nach Ehrlich (S. 24) führte nicht zu Schleimsäure.

1 g Sirup wurde mit 5 ccm Wasser, 600 mg α-Methylphenylhydrazin und Alkohol zur klaren Lösung nach Kap. VI, S. 166, gebracht. Nach 24 Stunden wurde ein gelbgefärbtes Hydrazon abgesogen, in heißem 30% Alkohol mit Tierkohle entfärbt. Es kristallisierte ein Hydrazon mit Schmelzpunkt 189° aus. Nach noch einmaliger Umkristallisierung war der Schmpt. 190—191, also der der Galaktoseverbindung.

Ebenso gab der ursprüngliche Sirup dasselbe Hydrazon.

Weiter wurde die d-Galaktose als o-Tolylhydrazon nach S. 206 mit Schmelzpunkt 176° identifiziert.

Pentosen- und Methylpentosenreaktionen des Sirups

2 Tropfen Sirup wurden nach der Bialschen Orzinprobe behandelt (Kap. III). Der Amylalkohol war nicht blaugrün, sondern braungrün, wie die Methylpentosen verursachen.

Ein Pentosenband auf 6—7 im Spektroskop war nicht zu sehen, nur das Methylpentosenband auf 5—6.

2 Tropfen Sirup wurden nach Kap. III, S. 39, mit 5 ccm 18% Salzsäure und etwas Phlorogluzin behandelt. Die Farbe war sehr zweifelhaft, ebenso das Auftreten des Pentosenbandes.

2 Tropfen Sirup wurden nach Kap. III mit 10 ccm 38% Salzsäure und 1,5 ccm Azeton erhitzt, es entstand eine schönviolette Farbe und ein Band auf 7—8. Bald verschwand das Band auf 7,5—8, und das Methylpentosenband auf 7—7,5 blieb.

Die Schiffsche Reaktion auf S. 44 fiel positiv aus, so daß Pentosen doch vorliegen.

Aus diesen Versuchen erhellt, daß wir es mit einer Methylpentose zu tun haben, und mit einer Pentose oder als Pentose reagierenden Substanz.

Es gelang mir jedoch nicht, Arabinose in 2,5 g glukosefreiem Sirup als Benzylphenyl-, oder als Diphenylhydrazon nachzuweisen; wurde aber eine kleine Menge Arabinose (50 mg) der Reaktionsflüssigkeit zugegeben, so erfolgte Hydrazonabscheidung in 24 Stunden. Das wurde mehrmals bei neuen Saccharidlarstellungen wiederholt, immer mit gleichem Erfolg. Somit wurde auf die Abwesenheit von l-Arabinose geschlossen. Xylose, sowie die Glukuronsäuregruppe lagen ebenso nicht vor. Doch muß nach den, zwar nach einigen Beobachtungen zweifelhafte Reaktionen, eine Pentose, oder als Pentose reagierende Substanz vorliegen; sie ist hier aber unbekannt geblieben.

Blau (a. a. O.) gibt zwar an, er habe die Arabinose als Benzylphenylhydrazon mit Schmelzpunkt 170° nachgewiesen (der Schmelzpunkt ist 174°); ich fand sie nicht auf, und ihre Anwesenheit war mir durch den schlechten oder negativen Ausfall der meisten Pentosenreaktionen, welche sonst von Arabinose gut gegeben werden, von vornherein zweifelhaft.

Infolge der Anwesenheit der ziemlich starken Säure müssen die Hydrazonbildungen ohne Erhitzung abgewartet werden, weil sonst starke Braunfärbung eintritt; indessen tritt auch schon bei gewöhnlicher Temperatur nach einiger Zeit Braunfärbung ein, stört aber weniger.

Es liegen somit d-Glukose, d-Galaktose, eine Pentose oder als Pentose reagierende Substanz, eine Methylpentose, sowie eine Säure vor (nicht zur Glukuronsäuregruppe gehörend).

Wenn wir diese Säure daher ausschalten, und die Glukose, wie oben angegeben, mittels Preßhefe zur Vergärung bringen, liegt hier also die Dreizahl Galaktose—Pentose—Methylpentose, also Fall 7 von Kap. IX vor (S. 313).

Von den Methylpentosen lag Fukose sicher nicht vor, weil sie sich sonst als α-Methylphenylhydrazon neben der Galaktoseverbindung ausscheiden müßte. Das war niemals der Fall; das einige Male gewonnene α-Methylphenylhydrazon war stets die reine Galaktoseverbindung.

Die völlige Vergärung der d-Glukose ist für die Identifizierung von Rhamnose unbedingt erforderlich. Die Rhamnose ist neben Glukose arm an Unterscheidungsmerkmalen, wie wir in Kap. VIII, S. 259 erfahren haben. Die einzig brauchbare Verbindung ist in unserem Falle das p-Bromphenylosazon; dieses Osazon hat aber mit dem der d-Glukose die Schwerlöslichkeit gemein, und hat ungefähr denselben Schmelzpunkt.

Es wurden daher 5 g Sirup, wie oben, zur Vergärung gebracht. Nach einmaliger Wiederholung war die Glukose verschwunden, was mit dem Lohnsteinschen Apparat kontrolliert wurde. Nach Filtration, Eindampfen, Reinigung mit starkem Alkohol wurde 1,8 g Sirup erhalten. Dieser wurde in 10 ccm Wasser gelöst, 1 g α-Methylphenylhydrazin und Alkohol zur klaren Lösung zugegeben. Nach 24 St. wurde das abgesogene Hydrazon aus 30%-A. umkristallisiert; Schmelzpunkt war 190—191°, also die Galaktoseverbindung. Nach weiteren 24 St. schied sich nichts mehr aus. Das Filtrat wurde nach Kap. VII, S. 229 mit 1 g 40%-Formaldehyd behandelt und schließlich 1,5 g Sirup erhalten. Dieser wurde nach Kap. VI, S. 216 mit 20 ccm Wasser, 3 g salzs. p-Bromphenylhydrazin und 4 g Natriumazetat während 3 St. im Wasserbade erhitzt. Die abgeschiedene Masse wurde gesammelt, und mit 90%-A. abgewaschen. Alles löste sich, außer etwas Galaktose-p-Bromphenylhydrazon, das, wie schon im Kap. VI, S. 219 hervorgehoben

wurde, dem Übergang in Osazon hartnäckig Widerstand bietet. Es lag somit der Beweis vor, daß nicht alle Galaktose als α-Methylphenylhydrazon niedergeschlagen war. Das macht schon den Nachweis von Rhamnose neben Galaktose schwer. Entweder der geringen Menge Methylpentose (4,2 %) oder wegen der Anwesenheit einer anderen Methylpentose als Rhamnose und Fukose konnte erstere nicht nachgewiesen werden.

Bemerkung: Während der Drucklegung dieses Buches kam mir die Dissertation Bosshards[1]) zu Gesicht.

Von der hier nur in Betracht kommenden Untersuchung der Kastaniensamen-Saponinsaccharide sei erwähnt, daß d-Glukose, d-Fruktose, d-Galaktose und geringe Mengen einer Pentose gefunden wurden.

Von diesen Sacchariden ist die d-Glukose und die d-Galaktose richtig angegeben, obschon es sehr gewagt ist, auf Galaktose nur nach der Schleimsäurereaktion zu identifizieren, wie wir das in vorigen Kapiteln ausführlich dargetan haben.

Die Auffindung der d-Fruktose ist aber unrichtig, wie wir gesehen haben, weil das Saponin, völlig vom Rohrzucker befreit, keine Fruktose abspaltet.

Herr Prof. Winterstein (Zürich) meldete mir brieflich (2. 12. 19), er habe Rohrzucker im Kastaniensaponin dartun können, sodaß die Entstehung von d-Fruktose aus dem Saponin höchst zweifelhaft erscheine.

Wie wir oben sahen, gelang es mir, die große Menge Rohrzucker völlig zu entfernen, und nachzuweisen, daß das Saponin keine Fruktose abspaltet.

Bosshard (a. a. O.) fand keine Methylpentose und keine Säure als Spaltungsprodukte auf; beide sind doch vorhanden.

Weil es mir noch nicht gelang, die Säure zu identifizieren (das Ba-Salz kristallisiert schön), wird die Untersuchung fortgesetzt.

C. Untersuchung der Hydrolyseprodukte des Traganth-Gummis

Für die Literaturangaben sei auf die „Einleitung“, S. 4 verwiesen.

Der von mir untersuchte weiße Traganth war unbekannter Herkunft.

---

[1]) G. A. Bosshard, Beiträge zur Kenntnis der Samen der Roßkastanie und der in diesen Samen enthaltenen Saponin-Substanzen. Diss. Zürich (Techn. Hochschule), 1916.

Voruntersuchung

1. Eine Wasserbestimmung bei 105° wies 20% auf.

2. Eine Aschebestimmung 2,6% (Ca und Mg enthaltend).

3. Qual. Pentosen- (inkl. Säuren) und Methylpentosennachweis.

Nach den Ergebnissen aus Kap. III untersucht, fielen beide positiv aus.

1 g Traganth wurde mit 6% Schwefelsäure während 6 St. hydrolysiert und mit Barytwasser auf Congopapier neutralisiert, filtriert, und das Filtrat auf 50 ccm gebracht.

Bialsche Probe (S. 36) mit 2,5 ccm:

Bräunlich-grün. Band auf 5—6. Kein zweites. Mit 5 ccm: bläulich-olivengrün. Band auf 6—6,5, und eins auf 7. Kein Band auf 5—6. Bei Verdünnung verschwindet Band auf 7, und bleibt nur Band auf 6—6,5. Es wurde also mehr Pentose als Methylpentose nachgewiesen.

Mit 3 ccm und 2 Min. Erwärmen ein Band auf 6,5 deutlich. Band auf 5—6 undeutlich. Die Ergebnisse sind also wechselnde.

Wheeler- und Tollenssche Probe mit 2,5 ccm (S. 39). Nicht schön rotviolett. Deutliches Pentosenband auf ungefähr 7,5.

Neumannsche Orzinprobe (S. 44):

2 ccm wurden eingedampft und mit 5 ccm 99% Essigsäure und 5 Tr. 5% alkoholischer Orzinlösung gekocht; dann wurden 10 Tr. starker Schwefelsäure zugetröpfelt. In 2 c M.-Schicht: Band 6,5—7; in 4 c M.-Schicht: Band 6,5—7 und 5,5—6 als Pentosebanden.

Rosenthalersche Resorzinprobe (S. 41), die Schiffsche Probe auf Pentosen (S. 44), die Rosenthalersche (S. 48) und die Widtsoesche Methylpentosenprobe (S. 51):

18 ccm wurden mit 20 ccm 25% Salzsäure, wie in Kap. III an entsprechender Stelle angegeben wurde, nach der Pentosenbestimmung destilliert. Es wurden 9 Destillate erhalten.

Resorzin nach Rosenthaler: mit 2,5 ccm der Destillate. In allen: dunkel-violette Niederschläge. Sie wurden auf einem Filter gesammelt, ausgewaschen und in Eisessig gelöst. Band auf 6 deutlich, auf 7 sehr schwach. Also Pentosen positiv.

Schiff: mit 1 Tr.: rote Farbe und Pentosenband auf Srδ.

Rosenthalersche Methylpentosereaktion: ein Teil einiger Destillate wurde vereint usw. Nach 3 Min. nicht schön violett, Band auf 7. Also Methylpentose.

Widtsoesche Probe: einige Destillate wurden vereint und mit gleichen Teilen 38 % HCl erhitzt. Eine orangegelbe Farbe, schwaches Methylpentosenband auf etwa 9 bis etwa 10.

Pentosen oder als solche reagierende Substanzen oder beide, sowie Methylpentosen kommen also vor.

4. Quant. Bestimmung der Furfurol- und Methylfurfurolphlorogluzidmengen.

3/4 g Traganth erzeugte 383,5 mg Phlorogluzid nach der Methode in Kap. III, quant. Teil. Nach der Alkoholbehandlung blieben 298 mg Furfurolphlorogluzid ungelöst zurück. Also 85,5 mg Methylfurfurolphlorogluzid.

5. Quant. Bestimmung der Säuren.

Nach der Lefèvreschen CO_2-Methode im quant. Teil des Kap. III, S. 71 gab 1 g Traganth 87 mg CO_2. Wenn 2 mg des blinden Versuchs in Abzug gebracht werden, bleiben 85 mg CO_2.

Nach 7 u. 8 (S. 335) stellt sich die Anwesenheit von d-Galakturonsäure heraus. Aus der quant. Laktosehefegärung und den Schleimsäurebestimmungen nach 7 und 8 folgt, daß von den Säuren nur Galakturonsäure vorliegen muß (Glukuronsäure fehlte, weil 10 g Traganth mit Salpetersäure oxydiert usw. keine Zuckersäure bildete). Wir sind wohl berechtigt, die 85 mg mit 4 zu multiplizieren, um die Menge Galakturonsäure zu erhalten. Somit kommt sie im Traganth zu 34 % vor. (Siehe weiter bei 7 und 8 d.)

Die 340 mg Galakturonsäure in 1 g Traganth korrespondieren mit 113,3 mg Furfurolphlorogluzid. Drei Viertel dieser Menge in 3/4 g Traganth ist also von dem aus 3/4 g Traganth erhaltenen Total-Furfurolphlorogluzid aus 4 in Abzug zu bringen; bleibt also 213 mg aus den Pentosen.

Wie aus der weiteren Untersuchung ersichtlich werden wird, kommen l-Arabinose und Xylose beide vor und zwar nach den qualitativen Ergebnissen viel mehr Xylose als Arabinose. Um beide Mengen zu kennen, würden wir folgenderweise verfahren können:

Rhamnose fehlt (siehe weiter). Fukose kommt zu 18,7 % vor (siehe weiter). Wir könnten also nach Neuberg-Wohlgemuth (Kap. V, S. 131) die Summe von Arabinose- und Fukosediphenylhydrazon bestimmen. Wir könnten dann die mit der bekannten Menge Fukose korrespondierende Menge Fukosediphenylhydrazon in Abzug bringen, und wir wissen die Menge Arabinosediphenylhydrazon und daraus die Menge Arabinose. Diese als Phlorogluzid

berechnet, von den 213 mg Phlorogluzid abgezogen, gibt die Menge Phlorogluzid aus der Xylose an.

Die Methode versagte hier leider, weil viel zu wenig Diphenylhydrazon sich ausschied. Die einzelnen Mengen Arabinose und Xylose wurden also nicht bekannt.

Wir begnügen uns daher mit dem Mittelwert. In $^3/_4$ g Traganth also 219,4 mg Pentose = 29,25% Arabinose + Xylose.

Die Methylpentose stellte sich später als nur Fukose heraus. Die 85,5 mg Methylfurfurolphlorogluzid in $^3/_4$ g Traganth nach der Mayerschen Formel (S. 83) stimmen mit 140,3 mg Fukose = 18,7%.

6. Nachweis der Glukuronsäuregruppe.

Die Naphtoresorzinreaktion nach 6. im Kap. IX (S. 300), also über die Bleiverbindung, fiel unbegreiflicherweise negativ aus, obschon die d-Galakturonsäure in größeren Mengen vorlag. Sie konnte aber über das Baryumsalz nachgewiesen werden (siehe weiter).

7 und 8. Qual. und quant. Hexosen- und Säurenachweis.

1 g Traganth wurde mittels 25 ccm 6% Schwefelsäure während 6 St. hydrolysiert. Die Flüssigkeit wurde nach 8. in Kap. IX (S. 301) vorbereitet (mit $BaCO_3$ und Alkoholauskochung, Säuren als Ba-Salze entfernt), und steril auf 10 ccm bei 15° aufgefüllt.

a) Mit $^1/_2$ ccm = 50 mg Traganth wurde im Lohnsteinschen Apparate die Hexose, außer Galaktose, mit 50 mg Preßhefe bestimmt.

t = 15°; Bar. = 760 m M., Ablesung 20° = 0,29%, bei 35 = 0,20% also:

$$p = 0{,}2 + \frac{0{,}09}{15} \times 20 = 0{,}32\,\% \text{ in } ^1/_2 \text{ ccm} = 1{,}6 \text{ mg als}$$

Glukose. Werden 0,5 mg des blinden Versuches in Abzug gebracht, so bleibt 1,1 mg als Glukose = 2,2%.

Widtsoe (a. a. O.) fand eine kleine Menge nach der Zuckersäurereaktion auf.

b) Mit 1 ccm = 100 mg Traganth wurde im van Iterson-Kluyverschen Apparate nach Kap. IV, S. 109 eine Total-Hexosenbestimmung gemacht:

t = 20°; Bar. = 755 m M.; Ablesung 0,3 ccm. Aus der Korrektionstabelle auf S. 111 folgt, daß 7,4% in Abzug zu bringen sind für die Herleitung auf 0° und 760 m M. Wird 0,022. Bleibt

also 0,278 ccm. Hierbei müssen 1,2 ccm für die gelöste CO_2 aufgezählt werden, wird also 1,478 ccm. Für die Glukose sind $\frac{2,2}{4,2}$ = 0,524 ccm in Abzug zu bringen (S. 113). Bleibt also für die Galaktose 0,95 ccm = 4,2 mg, also 4,2% Galaktose.

Ein Parallelversuch mit 20 mg Galaktose wies die richtige Versuchsbedingung an.

c) Zur weiteren Kontrolle wurde eine Schleimsäurebestimmung in 5 ccm = 0,5 g Traganth, nach der Methode auf S. 123 beschrieben, unter Hinzufügung von 600 mg Saccharose und Benutzung der Tabelle II ausgeführt. Es wurde 7 mg Schleimsäure erhalten = 17,2 mg d-Galaktose = 3,44% Galaktose.

d) Um uns von der Ab- oder Anwesenheit der d-Galakturonsäure zu überzeugen und deren Menge zu bestimmen, wurde 1 g Traganth nach der Schleimsäuremethode auf S. 123 oxydiert. (Saccharosezufügung war nicht nötig, weil etwa 1 g Saccharid entsteht.) Nach Eindampfung auf etwa 30 ccm wurde von der sogenannten „Traganthcellulose" abfiltriert, Filter ausgewaschen und das klare Filtrat weiter, wie angegeben, behandelt. Es wurden 241,5 mg Schleimsäure erhalten = 351,7 mg Galakturonsäure + Galaktose (Tabelle II). Werden 3,44% gefundene Galaktose in Abzug gebracht, so wird die Galakturonsäure zu 31,73% gefunden, eine Menge, welche ungefähr mit 34% nach der Lefèvreschen Methode stimmt.

Weiter ist hieraus ersichtlich, daß sich Galakturonsäure wie bei Galaktose nach der Schleimsäuremethode berechnen läßt, was auch nach der Formel der Galakturonsäure stimmt.

9. Quant. Bestimmung des unlöslichen Rückstandes bei der Hydrolyse.

Es wurde 1,1% gefunden. Wir können also Folgendes aufstellen:

Wasser	= 20%	
Asche	= 2,6%	
Pentosen . . .	= 29,25%	(nachher Arabin. + Xylose)
Methylpentose . .	= 18,7%	(nachher Fukose)
d-Galakturonsäure	= 32,8%	(aus 34% und 31,73%)
d-Galaktose . .	= 3,8%	
d-Glukose . . .	= 2,2%	
Unlösl. Rest . .	= 1,1%	
Summe etwa	110,45%	

(die Hydrolyse verläuft unter Wasseraufnahme).

Hydrolyse, und Auffindung der einzelnen Monosaccharide und der Säure

100 g Traganth-Gummi wurden mit 800 ccm 6% Schwefelsäure während 2 Std. im Wasserbade erhitzt, dann während 6—7 St. auf dem Drahtnetze am Rückflußkühler gekocht. Nach 24 St. wurde abfiltriert und das Filtrat mit Übermaß Baryumkarbonat zur Trockne verdampft. Die trockne Masse wurde fünfmal mit 90%-A. ausgekocht und jedesmal scharf abgesaugt. Die ausgezogene Baryumkarbonatmasse, welche das Baryumsalz der Aldehydsäure enthält, wurde aufbewahrt.

Der auf Lackmus sauer, auf Congo neutral reagierende Auszug wurde zum Sirup verdampft und in kleinen Portionen mit 95%-A. behandelt und dann filtriert. Die vereinigten Filtrate wurden mit reiner Tierkohle entfärbt usw. und wieder zu einem bräunlichgelben Sirup eingedampft. Aus den Ergebnissen der Voruntersuchung folgte schon, daß hier Fall 7 von Kap. IX, S. 313 vorliegt.

1. Mit Benzylphenylhydrazin wurde aus 2 g Sirup nach Kap. VI, S. 167 ein Hydrazon erhalten, das, nach seinem Schmelzpunkte etwa 159°, zu urteilen, die Arabinose- und die Fukoseverbindung darstellen kann, weil beide niederschlagen.

Das Filtrat wurde nach Kap. VII mittels Formaldehyd zersetzt usw. Mit dem erhaltenen Sirup wurde die Xylonsäurereaktion angestellt (Kap. III, S. 58). Nach zwei Umkristallisierungen wurden die schönen, bootförmigen Kristalle des Doppelsalzes erhalten. Somit liegt Xylose vor.

2. Weil aus Kap. VI erhellt. daß nur Arabinose mit Benzhydrazin in wässeriger Lösung als Hydrazon niederschlägt, wurde 1 g Sirup mit 1/2 g Benzhydrazin und 5 ccm Wasser zur Lösung gebracht. Nach 24 St. wurde ein Hydrazon gesammelt, mit Wasser gewaschen und aus 96%-A. umkristallisiert. Schmelzpunkt war 209°, der der Arabinoseverbindung.

Das Filtrat wurde nach Kap. VII mit Formaldehyd behandelt und der gewonnene Sirup (1/2 g) mit 2 ccm Wasser und 300 mg Phenylhydrazin behandelt. Nach 2 Tagen wurde ein Hydrazon gesammelt, mit 95%-A. und mit Äther gewaschen. Schmelzpunkt war 168°, nach einmal Umkristallisieren aus 95%-A. 170—171°. Mischprobe mit der Fukoseverbindung keine Erniedrigung. Also Fukose.

Wie aus den Ergebnissen in Kap. VIII, S. 244 erhellt, ist das der einzige Weg, Arabinose und Fukose zu trennen.

3. Um völlige Sicherheit für ihre Identifizierung zu erlangen, wenn möglich auch die anderen Saccharide zu berücksichtigen und nach Rhamnose zu fahnden, ist es erforderlich, Paare niederzuschlagen. Aus Kap. VI, S. 181 folgt, daß wir im Diphenylhydrazin ein Mittel besitzen, die Arabinose und die Fukose zusammen niederzuschlagen.

3 g Sirup in 15 ccm Wasser gelöst, wurden mit 2 g Diphenylhydrazin und absol. A. zur klaren Lösung schwach erhitzt, und 24 St. gewartet. Es wurde viel Hydrazon gesammelt, mit A. gewaschen und nach Kap. VII mit viel Formaldehyd zersetzt. Der schließlich gewonnene reine Arabinose-Fukosesirup wurde nach 2 getrennt. Das Benzhydrazid schmolz bei 209°, war also die Arabinoseverbindung. Das Hydrazon bei 170°, also die Fukoseverbindung.

Wir besitzen in dieser Trennung gleichzeitig ein Mittel, die beiden Zucker über ihr entsprechendes Hydrazon rein darzustellen, und weiter nach Kap. VIII. B. näher zu identifizieren.

Das Filtrat des Diphenylhydrazons wurde nach Kap. VII mit Formaldehyd zersetzt und lieferte einen Sirup, der neben möglicherweise noch etwas anwesender Arabinose und Fukose, die schon früher nachgewiesene Xylose, wahrscheinlich gemachte d-Glukose, Galaktose und möglicherweise Rhamnose enthält. Um Rhamnose nachzuweisen, bleibt nicht viel anderes über, als die Darstellung ihres p-Bromphenylosazons, das ebenso wie die Glukose- und Fruktoseverbindung in 90%-A. schwer löslich ist, während die Xylose-, Arabinose- und Fukoseverbindungen gut löslich sind (Kap. VI). Viel Galaktose stört durch hartnäckige Hydrazonbildung, die hier nicht zu befürchten ist, weil nur wenig Galaktose vorkommt. Es bleibt also notwendig, die Glukose mittels Preßhefe zu vergären. Die völlig von Glukose befreite Lösung usw. wurde nach Kap. VI, S. 216 mit 1 g salzsaurem p-Bromphenylhydrazin und 1,5 g Natriumazetat behandelt. Es wurde kein in A. schwer lösliches Osazon erhalten. Somit wurde auf die Abwesenheit von Rhamnose geschlossen.

4. Auch gelingt es, die Fukose als Phenylhydrazon direkt im Sirup nachzuweisen (Sirup war mittels A. und Azeton gereinigt). Es wurde dafür der Sirup mit 3 Teilen Wasser und $^4/_5$ Teil Hydrazin behandelt.

5. d-Galaktosenachweis.

Weil der Gärversuch, sowie die Schleimsäurebestimmung die Galaktose sehr wahrscheinlich gemacht hatten, wurden aus 5 g Sirup in 20 ccm Wasser die Arabinose und Fukose mit 4 g Diphenylhydrazin, wie oben, möglichst vollständig niedergeschlagen.

Das Filtrat wurde mit 15 ccm 40% Formaldehyd behandelt usw. und der erhaltene Sirup mit o-Tolylhydrazin und A. nach Kap. VI, S. 206 behandelt. Es wurden nach 24 St. 120 mg Hydrazon erhalten und aus 95%-A. umkristallisiert. Der Schmelzpunkt war 176°, also der der Galaktoseverbindung.

6. Auffindung der Säure.

Die mittels A. (90%) völlig von den Sacchariden befreite Baryumkarbonatmasse wurde mit Wasser ausgezogen. Die filtrierte Baryumsalzlösung wurde mit verdünnter Schwefelsäure behandelt, bis eine filtrierte Probe noch sehr wenig Baryumsalz enthält. Die filtrierte Lösung wurde zum Sirup eingedampft und mit absol. A. behandelt. Viel Substanz blieb zurück; diese war pulverisierbar und enthielt ziemlich viel Galakturonsäure, denn mit Salpetersäure entstand ziemlich viel Schleimsäure.

Die alkoholische, auf Lackmus sauer reagierende Flüssigkeit wurde mit Tierkohle entfärbt, filtriert und zum Sirup verdunstet. Er gab nach Vorbehandlung mit norm. Bleiazetate einen Niederschlag mit bas. Bleiazetate, mit Barytwasser im Überschuß einen Niederschlag, schnelle Reduktion der Fehlingschen Lösung bei gewöhnlicher Temperatur, positive Naphtoresorzinreaktion mit Benzolausschüttelung, und bei Oxydierung mit Salpetersäure viel Schleimsäure.

Obschon es mir nicht gelang, eine kristallinische Cinchoninverbindung nach Neuberg-Ehrlich, und mittels kaltem Brom nach Ehrlich Schleimsäure abzutrennen, erachte ich aus obigen Reaktionen und aus den Ergebnissen der Voruntersuchung die Identifizierung der d-Galakturonsäure nach den jetzigen Kenntnissen genügend sicher, solches als nähere Bestätigung der Ehrlichschen Angaben (a. a. O.).

7. Nach einiger Zeit war der Hydrolysesirup schwach kristallisiert. Das farblose kristallinische Pulver wurde abgesogen und mit A. gewaschen usw.

Optische aktiv: c in $H_2O = 8{,}045$. $t = 20°$. $\alpha = 1{,}6°$, also $\alpha_D = +19{,}8$. Somit war es Xylose, was noch durch die Abscheidung des m-Nitrophenylhydrazons bestätigt wurde.

Schlußfolge:

Von den Sacchariden wurden also nachgewiesen: l-Arabinose, Xylose (zusammen 29,25%), Fukose (18,7%), d-Galaktose (3,8%), sehr wahrscheinlich d-Glukose (2,2%, aus dem Amylum des Traganths). Abwesend waren: Rhamnose, d-Mannose und d-Fruktose.

Von den Aldehydsäuren wurde d-Galakturonsäure nachgewiesen (32,8%); d-Glukuronsäure, sowie andere Säuren lagen nicht vor.

Durch die Verbindung der Lefèvreschen CO_2-Methode, der Kent-Tollens-Creydt-Van der Haarschen Schleimsäurebestimmungsmethode unter Benutzung der von letzterem gegebenen Tabellen, und der van Iterson-Kluyverschen biochemischen Methode, sowie der Benutzung des Lohnsteinschen Apparates, sind wir nicht nur in der Lage, d-Galaktose und d-Galakturonsäure nachzuweisen, sondern auch beide quantitativ nebeneinander zu bestimmen. Das dürfte auch für künftige Galakturonsäurestudien von Wichtigkeit sein.

659

Autorenverzeichnis

(Die Ziffern hinter den Namen bedeuten die Seitenzahlen)

Abkürzungen

Acad. Amsterdam = Verslagen der Koninklyke Academie van Wetenschappen te Amsterdam.
Amer. = American chemical Journal.
Anal. Chem. = Zeitschrift für analytische Chemie.
Angew. Ch. = Zeitschrift für angewandte Chemie.
Apoth.-Ztg. = Apotheker Zeitung.
Arch. = Archiv der Pharmazie.
Ber. = Berichte der deutschen Chemischen Gesellschaft.
Ber. pharm. = Berichte der deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft.
Ber. Woch. = Berliner klinische Wochenschrift.
Bio. = Biochemische Zeitschrift.
Chem. Centr. = Chemisches Centralblatt.
Ch. J. = Chemisch Jaarboekje.
Ch. W. = Chemisch Weekblad.
Chem. Ztg. = Chemiker Zeitung.
C. R. = Comptes rendus de l'Académie de Sciences de Paris.
Dingl. = Dinglers Polytechnisches Journal.
Gaz. ital. = Gazetta chimica italiana.
Journ. Am. = Journal of the American chemical Society.
J. Bio. = Journal of the biological Chemistry.
J. Chem. Soc. = Journal of the chemical Society.
J. Landw. = Journal für Landwirtschaft.
J. Ph. Ch. = Journal de Pharmacie et de Chimie.
J. pr. Ch. = Journal für praktische Chemie.
Landw. Vers. = Landwirtschaftliche Versuchsstationen.
Lieb. Ann. = Liebigs Annalen.
M. = Monatshefte für Chemie.
Med. Woch. = Deutsche Medizinische Wochenschrift.
Mèm. Bull. = Mémoires Bulletins de la Société chimique de Paris.
Mitth. Lab. = Mittheilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiène.
Münch. Woch. = Münchener medizinische Wochenschrift.
Nederl. Pharm. = Nederlandsch Tydschrift voor Chemie, Pharmacie en Toxicologie.
Pharm. Journ. = Pharmaceutical Journal.
Pharm. W. = Pharmaceutisch Weekblad.
Proc. Soc. = Proceedings of the Chemical Society.
Rec. = Recueil des Travaux chimiques des Pays-Bas et de la Belgique.

Z. Böhm. = Zeitschrift für die Zuckerindustrie Böhmens.
Z. physiol. Ch. = Hoppe-Seylers Zeitschrift für physiologische Chemie.
Z. Rüb. = Zeitschrift für die Rübenzuckerindustrie Deutschlands.
Schmpt. = Schmelzpunkt.
A. = Alkohol = Äthylalkohol.
Ä. = Äther.
W. = Wasser.
abs. = absolut.

Druckfehlerverzeichnis

Seite 7: „Cymarose“ besser in Kap. I zu bringen.
„ 34: „Kapitel III“ statt „Dritter Teil“ zu lesen.
„ 57: 13. Zeile von oben zu lesen: „braungelb“ statt „braugelb“.
„ 64: 21. Zeile von oben, einzufügen „und genau gewogenes“.
„ 82: Zu lesen „Kapitel IV“ statt „Kapitel III“.
„ 90: 15. Zeile von unten zu lesen „zu“ statt „zn“.
„ 91: Bei 4. zu lesen „van Kalmthout“ statt „Kalmthout“.
„ 112: 13. Zeile von oben, zu lesen „und“ statt „uud“.
„ 194: 4. und 9. Zeile von oben, zu lesen „Benzhydrazin“ statt „Benzhydrazid“.
„ 198: 6. und 10. Zeile von oben, zu lesen „Hydrazin“ statt „Hydrazid“.
„ 201: 14. Zeile von oben, zu lesen „o-Nitrobenzhydrazin“, statt „o-Nitrobenzhydrazid“.
„ 201: 12. Zeile von unten, zu lesen „Hydrazin“ statt „Hydrazid“.
„ 204: 8. Zeile von unten, zu lesen „Hydrazin“ statt „Hydrazid“.
„ 205: 16. Zeile von oben einzufügen „und Rhamnose“.
„ 217: 17. Zeile von unten, zu lesen „wurde“ statt „wurden“.
„ 225: 6. Zeile von oben, zu lesen „Hyde“ statt „Heyde“.
„ 245: 5. und 6. Zeile von oben, zu lesen „p-Tolylhydrazon“ statt „p-Tolyl“, und „p-Nitrophenylosazon und Phenylosazon“ statt „p-Nitrophenylhydrazon und Phenylhydrazon“.
„ 252: 2. Zeile von oben, zu lesen „p-Brombenzhydrazin“ statt „p-Brombenzhydrazid“.
„ 264: Letzte Zeile, zu lesen „Mannose“ statt „Glukose“.
„ 274: 4. Zeile von unten, zu lesen „p-Brombenzhydrazin“ statt „p-Brombenzhydrazid“.
„ 319: 2. Zeile von oben, zu lesen „alle“ statt „alte“.